UNIVERSITE DE LORRAINE
2013

FACULTE DE PHARMACIE

MEMOIRE
du DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
de PHARMACIE

Soutenu devant le Jury Interrégional

Le 24 octobre 2013

Par Mme **Pauline LIDER née BARBIER**
née le 08 novembre 1985

Conformément aux dispositions de l'arrêté du 4 octobre 1988 tient lieu de

THESE
pour le DIPLOME D'ETAT
de DOCTEUR en PHARMACIE

Évolution de la base de données Stabilis ® : Création d'un système de cotation des publications relatives aux études de stabilité de médicaments anticancéreux

Membres du Jury

Président	Jean-Louis MERLIN	PU-PH en Biologie Cellulaire, Faculté de Pharmacie de Nancy et Institut de Cancérologie de Lorraine
Directeurs	Jean VIGNERON	Pharmacien, PH, CHU de Nancy
	Béatrice DEMORE	MCU-PH en Pharmacie Clinique, Faculté de Pharmacie et CHU de Nancy
Juges	Isabelle GINDRE	Pharmacien, PH, CH Saint-Charles de TOUL
	Geneviève UBEAUD-SEQUIER	PU-PH en Pharmacocinétique, Faculté de Pharmacie et Hôpitaux Universitaires de Strasbourg

UNIVERSITÉ DE LORRAINE
FACULTÉ DE PHARMACIE
Année universitaire 2013-2014

DOYEN
Francine PAULUS
Vice-Doyen
Francine KEDZIEREWICZ
Directeur des Etudes
Virginie PICHON
Président du Conseil de la Pédagogie
Bertrand RIHN
Président de la Commission de la Recherche
Christophe GANTZER
Président de la Commission Prospective Facultaire
Jean-Yves JOUZEAU
Responsable de la Cellule de Formations Continue et Individuelle
Béatrice FAIVRE

Responsable ERASMUS :	Francine KEDZIEREWICZ
Responsable de la filière Officine :	Francine PAULUS
Responsables de la filière Industrie :	Isabelle LARTAUD, Jean-Bernard REGNOUF de VAINS
Responsable du Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier :	Jean-Michel SIMON
Responsable Pharma Plus E.N.S.I.C. :	Jean-Bernard REGNOUF de VAINS
Responsable Pharma Plus E.N.S.A.I.A. :	Raphaël DUVAL

DOYENS HONORAIRES
Chantal FINANCE
Claude VIGNERON

PROFESSEURS EMERITES
Jeffrey ATKINSON
Max HENRY
Gérard SIEST
Claude VIGNERON

PROFESSEURS HONORAIRES
Roger BONALY
Pierre DIXNEUF
Marie-Madeleine GALTEAU
Thérèse GIRARD
Maurice HOFFMANN
Michel JACQUE
Lucien LALLOZ
Pierre LECTARD
Vincent LOPPINET
Marcel MIRJOLET
Maurice PIERFITTE
Janine SCHWARTZBROD
Louis SCHWARTZBROD

MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES
Monique ALBERT
Gérald CATAU
Jean-Claude CHEVIN
Jocelyne COLLOMB
Bernard DANGIEN
Marie-Claude FUZELLIER
Françoise HINZELIN
Marie-Hélène LIVERTOUX
Bernard MIGNOT
Jean-Louis MONAL
Blandine MOREAU
Dominique NOTTER
Christine PERDICAKIS
Marie-France POCHON
Anne ROVEL
Maria WELLMAN-ROUSSEAU

ASSISTANTS HONORAIRES
Marie-Catherine BERTHE
Annie PAVIS

ENSEIGNANTS	Section CNU*	Discipline d'enseignement
PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS		
Danièle BENSOUSSAN-LEJZEROWICZ	82	Thérapie cellulaire
Chantal FINANCE	82	Virologie, Immunologie
Jean-Yves JOUZEAU	80	Bioanalyse du médicament
Jean-Louis MERLIN	82	Biologie cellulaire
Alain NICOLAS	80	Chimie analytique et Bromatologie
Jean-Michel SIMON	81	Economie de la santé, Législation pharmaceutique
PROFESSEURS DES UNIVERSITES		
Jean-Claude BLOCK	87	Santé publique
Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	86	Pharmacologie
Raphaël DUVAL	87	Microbiologie clinique
Béatrice FAIVRE	87	Biologie cellulaire, Hématologie
Luc FERRARI ¤	86	Toxicologie
Pascale FRIANT-MICHEL	85	Mathématiques, Physique
Christophe GANTZER	87	Microbiologie
Frédéric JORAND ¤	87	Environnement et Santé
Pierre LABRUDE (retraite 01-11-13)	86	Physiologie, Orthopédie, Maintien à domicile
Isabelle LARTAUD	86	Pharmacologie
Dominique LAURAIN-MATTAR	86	Pharmacognosie
Brigitte LEININGER-MULLER	87	Biochimie
Pierre LEROY	85	Chimie physique
Philippe MAINCENT	85	Pharmacie galénique
Alain MARSURA	32	Chimie organique
Patrick MENU	86	Physiologie
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS	86	Chimie thérapeutique
Bertrand RIHN	87	Biochimie, Biologie moléculaire
MAITRES DE CONFÉRENCES - PRATICIENS HOSPITALIERS		
Béatrice DEMORE	81	Pharmacie clinique
Julien PERRIN	82	Hématologie biologique
Marie SOCHA	81	Pharmacie clinique, thérapeutique et biotechnique
Nathalie THILLY	81	Santé publique
MAITRES DE CONFÉRENCES		
Sandrine BANAS	87	Parasitologie
Mariette BEAUD	87	Biologie cellulaire
Emmanuelle BENOIT	86	Communication et Santé
Isabelle BERTRAND	87	Microbiologie
Michel BOISBRUN	86	Chimie thérapeutique
François BONNEAUX	86	Chimie thérapeutique
Ariane BOUDIER	85	Chimie Physique
Cédric BOURA	86	Physiologie
Igor CLAROT	85	Chimie analytique
Joël COULON	87	Biochimie
Sébastien DADE	85	Bio-informatique
Dominique DECOLIN	85	Chimie analytique
Roudayna DIAB	85	Pharmacie galénique
Natacha DREUMONT	87	Biochimie générale, Biochimie clinique
Joël DUCOURNEAU	85	Biophysique, Acoustique

ENSEIGNANTS (suite)	*Section CNU**	*Discipline d'enseignement*
Florence DUMARCAY	*86*	*Chimie thérapeutique*
François DUPUIS	*86*	*Pharmacologie*
Adil FAIZ	*85*	*Biophysique, Acoustique*
Caroline GAUCHER	*85/86*	*Chimie physique, Pharmacologie*
Stéphane GIBAUD	*86*	*Pharmacie clinique*
Thierry HUMBERT	*86*	*Chimie organique*
Olivier JOUBERT	*86*	*Toxicologie*
Francine KEDZIEREWICZ	*85*	*Pharmacie galénique*
Alexandrine LAMBERT	*85*	*Informatique, Biostatistiques*
Faten MERHI-SOUSSI	*87*	*Hématologie*
Christophe MERLIN	*87*	*Microbiologie*
Maxime MOURER	*86*	*Chimie organique*
Coumba NDIAYE	*86*	*Epidémiologie et Santé publique*
Francine PAULUS	*85*	*Informatique*
Christine PERDICAKIS	*86*	*Chimie organique*
Caroline PERRIN-SARRADO	*86*	*Pharmacologie*
Virginie PICHON	*85*	*Biophysique*
Anne SAPIN-MINET	*85*	*Pharmacie galénique*
Marie-Paule SAUDER	*87*	*Mycologie, Botanique*
Gabriel TROCKLE	*86*	*Pharmacologie*
Mihayl VARBANOV	*87*	*Immuno-Virologie*
Marie-Noëlle VAULTIER	*87*	*Mycologie, Botanique*
Emilie VELOT	*86*	*Physiologie-Physiopathologie humaines*
Mohamed ZAIOU	*87*	*Biochimie et Biologie moléculaire*
Colette ZINUTTI	*85*	*Pharmacie galénique*
PROFESSEUR ASSOCIE		
Anne MAHEUT-BOSSER	*86*	*Sémiologie*
PROFESSEUR AGREGE		
Christophe COCHAUD	*11*	*Anglais*

SERMENT DES APOTHICAIRES

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l’ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

> **D’ honorer ceux qui m’ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.**
>
> **D’exercer, dans l’intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l’honneur, de la probité et du désintéressement.**
>
> **De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.**

Que les hommes m’accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d’opprobre et méprisé de mes confrères si j’y manque.

« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

Remerciements

À mon président du jury,

Mr Jean-Louis Merlin,

Professeur des Universités - Praticien Hospitalier, Faculté de Pharmacie de Nancy et Institut de Cancérologie de Lorraine

Vous me faites l'honneur de présider ce jury, je vous en remercie très sincèrement.

Que cette thèse représente toute ma reconnaissance à votre égard.

À mes co-directeurs de thèse,

Mr Jean Vigneron,

Pharmacien Praticien Hospitalier, Hôpitaux de Brabois - CHU de Nancy

Je vous remercie vivement pour la confiance que vous m'avez accordée en me proposant ce travail passionnant, pour vos conseils et votre grande disponibilité. Vous m'avez transmis le virus Stabilis®, travailler avec vous a été un plaisir incroyablement enrichissant, je vous adresse mon plus grand respect et ma profonde gratitude.

Et,

Mme Béatrice Demoré,

Maître de Conférences des Universités - Praticien Hospitalier, Faculté de Pharmacie de Nancy et Hôpitaux de Brabois - CHU de Nancy

Je vous remercie infiniment pour avoir accepté la co-direction de ce travail, pour vos idées et vos conseils si précieux, votre disponibilité, toujours dans l'enthousiasme et la bonne humeur. Au-delà de cette thèse, je souhaite vous adresser toute ma gratitude et ma plus grande reconnaissance pour votre engagement auprès des étudiants et vos encouragements depuis le début de l'externat et tout au long de mon internat.

À mes juges,

Mme Geneviève Ubeaud-Séquier,

Professeur des Universités - Praticien Hospitalier, Faculté de Pharmacie de Strasbourg et Hôpitaux Universitaires de Strasbourg

Je vous adresse mes plus sincères remerciements pour avoir accepté de participer à ce jury.

Recevez toute ma gratitude.

Et,

Mme Isabelle Gindre,

Pharmacien Praticien Hospitalier, Centre Hospitalier Saint-Charles, Toul

Vous avez accepté avec enthousiasme de juger ce travail, je vous en remercie. La présence de la célèbre "Madame Bonne Lecture" est un privilège, j'espère faire honneur au PA 2000 !

À Lionel, mon "marichéri",

Du plus profond de mon cœur je te remercie pour ta présence quand j'en ai eu tant besoin, tes encouragements, ton amour et ton soutien sans limite. Tu m'as supportée et conseillée pendant ces longs mois de travail, que notre amour en sorte encore plus grand, pour toute notre vie.

Je t'aime.

À Papa et Maman,

Par ces quelques lignes, je vous remercie pour votre soutien et vos encouragements pendant ces longues années d'études. J'espère être à la hauteur de l'amour que vous m'avez transmis tout au long de ma vie. Aujourd'hui, je suis épanouie, grâce à vous…

À mes deux sœurs Aurélie et Marion et mon petit frère Dimitri

Pour votre présence, votre soutien, tout simplement pour être là, et pour la place immense que vous occupez dans mon cœur, merci.

À Papy et Mamie,

Lire la fierté dans vos yeux est le plus beau des cadeaux que vous m'ayez fait. Pour tout votre amour et votre présence, je vous remercie du fond du cœur.

À Michel, Gisèle et Thierry,

Vous êtes bien plus que des « beaux-parents » dans mon cœur. Je vous remercie pour votre soutien, votre présence et vos encouragements. Recevez toute mon affection.

À toute ma famille, oncles et tantes, cousins et cousines, et à ma belle-famille,

À Papy Paul et Mamie Louise…

À mes "coupines", Amandine, Amélie, Claire, Coralie, Delphine et Laure-Anne,

(cherchez pas, c'est par ordre alphabétique ;) !!)

Voilà bientôt 10 ans que nous nous connaissons. Merci pour ces grands moments passés à la Fac et après… Pour votre amitié, votre présence et par avance pour tout ce qui nous attend encore, je vous remercie.

Aux "vieilles" amies, Marion, Lise et Charlotte,

La distance n'enlève rien à toute l'amitié que j'ai pour vous.

En souvenir de nos longues années passées à grandir et rire ensemble…

À tous les internes rencontrés pendant cet internat,

Je n'oublierai jamais ces 4 années passées ensemble, les moments difficiles que nous avons partagés, mais surtout les innombrables délires, potins et happy-hour ! Un grand merci !

À tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à ce travail,

Aux équipes de Pneumologie et d'Hématologie,

Et au personnel des pharmacies par lesquelles je suis passée, pharmaciens, internes, externes, préparateurs, secrétaires, techniciens de laboratoire, agents de service hospitalier…

Vous m'avez tant appris et apporté !

J'ai grandi auprès de vous et je m'en souviendrai toujours…

Sommaire

Liste des abréviations

BPP : Bonnes Pratiques de Préparation

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

CEX : *Cation-exchange Chromatography*, Chromatographie par échange de cations

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CLHP : Chromatographie Liquide à Haute Performance

CV : coefficient de variation

DAD : *Diode-array detector*, Détecteur à barrette de diodes

DEHP : Di(2-ethylhexyl)phtalate

DLS : *Dynamic-light scattering*, Diffusion dynamique de la lumière

EI : Etalon Interne

EPPI : Eau Pour Préparations Injectables

FDA : Food and Drug Administration

G5% : Solution de glucose à 5%

GERPAC : Groupe d'Evaluation et de Recherche sur la Protection en Atmosphère Contrôlée

HAS : Haute Autorité de Santé

ICH : International Conference on Harmonisation

IF : Impact Factor

IR : infrarouge

IV : intraveineuse

MAB : *Monoclonal Antibody*, anticorps monoclonaux

NaCl 0,9% : Solution de Chlorure de Sodium à 0,9%

PD : produit de dégradation

PUI : Pharmacie à Usage Intérieur

PVC : polychlorure de vinyle

RCP : Résumé des Caractéristiques du Produit

RMN : Résonnance Magnétique Nucléaire

SC : Sous-Cutanée

SEC : *Size-exclusion Chromatography*, chromatographie d'exclusion sur gel

SFPC : Société Française de Pharmacie Clinique

SFPO : Société Française de Pharmacie Oncologique

SIAMS : *Stability-indicating assay methods*, Méthode indicatrice de stabilité

SM : Spectrométrie de Masse

UCPC : Unité centralisée de Préparation de Cytostatiques

UCR : Unité Centralisée de Reconstitution

UV : Ultraviolet

ZAC : Zone à Atmosphère Contrôlée

Introduction

Les données de stabilité des médicaments, en particulier des anticancéreux, sont des informations indispensables dans la pratique quotidienne du pharmacien hospitalier. Les renseignements fournis par les laboratoires pharmaceutiques sont la plupart du temps insuffisants ou en inadéquation avec l'utilisation de ces médicaments en routine. Le pharmacien doit donc avoir recours à la réalisation ou la consultation d'études de stabilité publiées. Trois principales bases de données existent à ce jour : le Trissel Handbook on injectable drugs®, le King Guide to parenteral admixtures® et Stabilis®. Ces supports présentent des milliers de références mais l'hétérogénéité des données et de leur origine, ainsi que l'absence de commentaires constituent leurs limites, en particulier pour un pharmacien hospitalier ayant peu de recul dans ce domaine. Celui-ci se verra confronté à diverses questions : L'information est-elle fiable ? Peut-elle être utilisée d'emblée et mise en application à la pharmacie ? Puis-je la transmettre sans risque ? Les résultats ont-ils été obtenus par une méthode rigoureuse ? A l'heure actuelle, ces renseignements n'accompagnent pas les données de stabilités fournies. L'élaboration d'un système de cotation selon des critères bien définis et consultables par tous, pourrait répondre à ce type d'interrogation et guider le lecteur dans sa démarche.

L'objectif principal de notre travail est de proposer un système d'évaluation et de cotation des publications alimentant la base de données Stabilis® et portant sur la stabilité des médicaments anticancéreux injectables. Pour cela nous avons élaboré une grille d'évaluation selon des critères que nous avons prédéfinis pour la cotation. Tous ces articles ont ensuite été analysés et cotés selon ces critères, puis nous avons créé les écrans de saisie pour ces informations et les écrans de visualisation pour les utilisateurs.

L'objectif secondaire était l'élaboration d'une base de données complémentaire des équipes de recherche impliquées dans le domaine de la stabilité en Europe.

Ces travaux contribuent à l'évolution de Stabilis® afin d'en faciliter l'utilisation et la compréhension par ses nombreux utilisateurs.

Notre travail comporte deux parties. La première définit la stabilité, puis rappelle l'importance des études de stabilité pour les activités quotidiennes en Pharmacie à Usage Intérieur (PUI). Les recommandations pour mener une étude de qualité y sont ensuit abordées, avant de présenter les bases de données consacrées à ces études, notamment la base Stabilis®.

La deuxième partie concerne l'évolution de la base de données Stabilis®, par la création de notre système de cotation. Nous développerons successivement la méthode utilisée puis les résultats obtenus que nous discuterons.

1ère partie : Le pharmacien hospitalier et les études de stabilité

I Stabilité des médicaments et pratique quotidienne en Pharmacie à Usage Intérieur

I.1 Définition de la stabilité

Il existe plusieurs définitions pour la stabilité d'un médicament.

Dans un dictionnaire classique comme le Larousse®, la stabilité est définie comme « la permanence d'une espèce chimique » ou encore comme « la propriété d'un corps ou d'un système qui est dans son état d'équilibre ». [1] Ces définitions sont bien évidemment trop imprécises pour décrire le cas d'un médicament.

Une autre définition parfois employée décrit la stabilité comme « le temps pendant lequel le médicament conserve son intégrité sur les plans qualitatif et quantitatif » [2]. En fonction du temps, et parfois d'autres facteurs comme la température, la lumière ou la concentration de la solution, on peut constater une diminution de la teneur de la substance active ou l'apparition de produits de dégradation (PD). Parfois même, il arrive qu'une solution ou une suspension contienne des PD dès les premiers instants de sa préparation. C'est le cas des suspensions d'azacitidine (Vidaza®), pour lequel des PD peuvent être mis en évidence à T0, ceci s'expliquant par l'hydrolyse facile de l'azacitidine en dérivé formylé [3-5]. Si ces phénomènes se déroulent dans des limites spécifiées, le médicament peut être considéré comme stable. L'intégrité n'est donc pas appropriée pour définir la stabilité et cette définition s'avère fausse pour les médicaments.

Dans les publications internationales, on retrouve très fréquemment « la stabilité définie comme le maintien d'au moins de 90% de la concentration initiale en solution ». La notion de concentration en substance active exprimée en pourcentage de la concentration initiale constitue effectivement une approche de la stabilité. Cette définition est toutefois incomplète car ne tient pas compte des éventuelles impuretés et/ou PD. De plus, les anticancéreux sont des médicaments à marge thérapeutique étroite, dont l'efficacité comme la toxicité sont fortement doses-dépendantes. Bien qu'applicable pour la plupart des classes pharmacologiques, cette valeur de 90% est discutable pour le cas des anticancéreux.

Les recommandations établies par l'International Conference of Harmonisation (ICH) figurant dans l'ICH Q1A(R2) [6] définissent la stabilité comme « *The ability of an active ingredient or a drug product to retain its properties within specified limits throughout its shelf-life. The chemical, physical, microbiological and biopharmaceutical aspects of stability must be considered* ». Il y est également défini de façon générale ce que représente un changement significatif pour un médicament.

In general, "significant change" for a drug product is defined as:

1. A 5% change in assay from its initial value; or failure to meet the acceptance criteria for potency when using biological or immunological procedures;
2. Any degradation product's exceeding its acceptance criterion;
3. Failure to meet the acceptance criteria for appearance, physical attributes, and functionality test (e.g., color, phase separation, resuspendibility, caking, hardness, dose delivery per actuation); however, some changes in physical attributes (e.g., softening of suppositories, melting of creams) may be expected under accelerated conditions;

and, as appropriate for the dosage form:

4. Failure to meet the acceptance criterion for pH; or
5. Failure to meet the acceptance criteria for dissolution for 12 dosage units.

Figure 1 : Définition d'un "changement significatif" selon l'ICH Q1A

L'ICH Q1A(R2) introduit donc plusieurs nouvelles notions : le changement de seulement 5% par rapport à la valeur initiale et non plus 10%, la quantification des PD, la stabilité physique (couleur, séparation de phase, etc.), la variation de pH.

La stabilité d'un médicament doit donc être établie de façon très précise. Différentes données de stabilité sont à la disposition des professionnels de santé et plus particulièrement des pharmaciens hospitaliers.

I.2 Différents types de données de stabilité

Les données de stabilité viennent de plusieurs sources et sont de plusieurs types :

I.2.1 Stabilité du médicament non reconstitué

Elle fixe la date de péremption du médicament non utilisé, dans son conditionnement initial et dans les conditions données par le laboratoire. Ces données figurent souvent sur le conditionnement du médicament et sont obligatoirement fournies par le laboratoire pharmaceutique. Par exemple, la stabilité d'un flacon de poudre non ouvert d'azacitidine (Vidaza®) est de 4 ans [7].

I.2.2 Stabilité d'une poudre reconstituée avec un solvant donné

Il s'agit ici de la durée pendant laquelle le flacon reconstitué peut être conservé. Cette information est particulièrement importante pour les PUI puisqu'elle permettra par exemple de réutiliser un flacon de poudre reconstitué la veille. Ainsi après reconstitution avec 4 mL d'eau pour préparations injectables (EPPI) réfrigérée dont la température est comprise entre 2°C et 8°C, le laboratoire pharmaceutique qui commercialise l'azacitidine fournit une durée de stabilité pour la suspension obtenue de 22 heures entre 2°C et 8°C. [7], mais cette durée n'est que de 8 heures si l'EPPI utilisée n'était pas réfrigérée. Il s'agit d'une durée de stabilité relativement courte, ce qui restreint les possibilités de préparation à l'avance.

I.2.3 Stabilité d'une préparation spécifique

Elle désigne la stabilité d'un médicament donné, dans un solvant donné, à une concentration donnée, dans un contenant donné, et dans des conditions de conservations précises. Par exemple, Paul *et al*. ont démontré qu'une solution de bevacizumab à 25 mg/mL, conditionnée en seringue de propylène est stable 90 jours à 4°C et à l'abri de la lumière [8].

I.3 Stabilité et pratique quotidienne

I.3.1 Les informations absentes ou inappropriées de la part des laboratoires pharmaceutiques

Les données concernant la stabilité des médicaments reconstitués voire dilués ou de la préparation finale ne sont que très rarement fournies par les laboratoires pharmaceutiques. Il est souvent recommandé d'utiliser immédiatement la solution préparée ou parfois sous 24 heures en raison du risque microbiologique éventuel, lié aux différentes étapes de la préparation.

Pourtant les anticancéreux sont des médicaments administrés le plus souvent par voie parentérale et doivent donc être stériles pour limiter au maximum le risque infectieux pour le patient. Toutes les étapes de préparation de chimiothérapie sont assurées par les PUI. Les étapes de reconstitution, dilution, prélèvement, conditionnement par exemple en poches ou en seringues, et d'étiquetage sont ainsi réalisées par un personnel formé à des gestes précis. De plus, les anticancéreux sont des substances dangereuses pour le personnel qui manipule et pour l'environnement. Pour garantir la stérilité, la qualité des préparations, la sécurité du patient, la protection de l'environnement, et pour limiter le risque mutagène ou cancérogène pour le manipulateur, ces préparations sont effectuées dans le respect des Bonnes Pratiques de Préparation (BPP), en particulier des chapitres 6 et 7 [9] dans des Unités Centralisées de Reconstitution (UCR), encore appelée Unités Centralisées de Préparation de Cytostatiques (UCPC) qui sont des Zones à Atmosphère Contrôlée (ZAC).

Ces préparations étant stériles, le risque principal correspond à une dégradation par la lumière, l'hydrolyse ou la chaleur et ce sont la stabilité physique et la stabilité chimique qui seront déterminantes pour fixer la date limite d'utilisation. Par exemple la stabilité de l'épirubicine donnée dans le Résumé des Caractéristique du Produit (RCP) est de 24 heures à température ambiante et de 48 heures entre 2 et 8°C. L'étude menée par Pujol *et al*. a permis de démontrer que cette molécule est en réalité stable 14 jours à 25°C et 180 jours à 4°C [10].

De plus, le solvant, le conditionnement, les concentrations des solutions ou encore les durées de perfusion utilisées dans la pratique quotidienne peuvent différer de celles prévues par le laboratoire. Le pharmacien hospitalier se trouve ainsi régulièrement confronté à des questions relatives à la stabilité :

- *Le médicament est-il suffisamment stable pour envisager une perfusion de longue durée ?* L'administration de chimiothérapie en perfusion continue peut permettre l'exposition de plus de cellules pendant leur phase vulnérable du cycle cellulaire [11]. De plus, selon Hrubisko et al. [12], le transport du médicament dans les cellules tumorales est un mécanisme dépendant de la concentration de la chimiothérapie mais aussi de la durée d'exposition. Toutefois, pour permettre une administration en perfusion continue, il faut que la stabilité du médicament en question ait été prouvée pendant une durée au moins égale à celle de la perfusion et qu'il ne se dégrade pas pendant celle-ci.

- *Le médicament est-il suffisamment stable pour envisager une perfusion dans un diffuseur portable* ? Comme nous venons de le voir, l'administration de chimiothérapie en perfusion continue peut améliorer l'efficacité du traitement. En revanche cela peut entraîner une diminution de la qualité de vie du patient qui devrait rester hospitalisé plus longtemps. Etudier la stabilité de

certains de ces médicaments en diffuseur souple portable en élastomère ou dans des cassettes pour pompes apparaît donc indispensable. Le patient pourra ainsi recevoir sa chimiothérapie en ambulatoire

Priston et Sewell ont étudié plusieurs protocoles de chimiothérapie associant d'une part de l'ifosfamide avec du mesna et d'autre part de la doxorubicine avec de la vincristine dans les pompes à perfusion Graseby 9000® contenant des réservoirs en polychlorure de vinyle (PVC) et ont ainsi démontré leur utilisation possible dans ce type de dispositif [13].

➢ *Peut-on administrer ce médicament en même temps qu'un autre médicament ou même en mélange* ? Les protocoles de chimiothérapies nécessitent souvent l'administration de plusieurs médicaments anticancéreux au cours de la même journée, ou l'utilisation d'un antiémétique pour prévenir le risque de nausées associé à leur administration. Mais avant d'envisager l'administration simultanée de deux médicaments, il faut une preuve que la présence d'un médicament B n'altère pas les propriétés du médicament A et vice versa.

Le protocole VAD qui associe la vincristine (Oncovin®), la doxorubicine (adriamycine, Adriblastine®) et la dexamethasone est un protocole de chimiothérapie pouvant être utilisé dans les myélomes multiples en rechute après plusieurs lignes de traitement [14]. Dans ce protocole, la doxorubicine doit être administré en perfusion continue pendant 4 jours et nécessitait donc une hospitalisation de cette durée au minimum comme le montre le tableau I.

Tableau I : Protocole VAD [15]

Médicaments	Voie	Dose/m²	Volume	Solvant	Durée	Ryhme
ADRIBLASTINE	IV	9 mg	1 L	G 5%	Perf Continue	J1 à J4
ONCOVIN	IV	0,4 mg	10 cc	G 5%	5'	J1 à J4
DECTANCYL	po	40 mg / jour				J1 à J4 - J9 à J12 - J17 à J20

Plusieurs études de stabilité [13, 16-18] ont permis d'établir la stabilité d'un mélange de vincristine et de doxorubicine, pendant 7 jours à 37°C, conditionné dans des poches en PVC ou dans des diffuseurs en élastomères. Ces études ont eu un impact extrêmement positif sur le confort du patient, qui peut désormais réaliser sa chimiothérapie à domicile par le biais de son diffuseur portable.

D'autres exemples sont l'association à des anti-émétiques. Trissel *et al*. ont ainsi pu démontrer que le granisétron (Kytril®) n'était pas compatible avec l'amsacrine [19]. En revanche, la compatibilité de l'ondansétron (Zophren®), principal anti-émétique utilisé en oncologie, avec plusieurs anticancéreux dont l'étoposide, la cytarabine, la doxorubicine et le méthotrexate a été établie par Stewart et al. [20].

Un autre exemple est l'étude de Munson *et al.* qui ont démontré la stabilité de la cytarabine avec ajout de bicarbonate de sodium dans la préparation. Le bicarbonate permet en effet d'alcaliniser les urines du patient afin de limiter la toxicité due à l'hyperuricémie, elle-même provoquée par la lyse des cellules tumorales après administration de perfusion de cytarabine [21].

Toutes ces questions ne sont pas envisagées par les laboratoires et il revient donc aux PUI ou aux universités de réaliser des études de stabilité pour les résoudre [22].

I.3.2 Le contexte réglementaire

Une autre raison de l'implication des PUI dans les études de stabilité est le contexte réglementaire. Nous avons vu que les préparations sont effectuées dans le respect des BPP. Hormis les conditions proprement dites de préparation (gestes, formation du personnel, assurance qualité, locaux agréés…), les BPP précisent que les études de stabilité sont du rôle du pharmacien hospitalier. Immédiatement après sa préparation, la poche ou la seringue doit être étiquetée. Sur cette étiquette figure les renseignements relatifs au patient (nom, prénom, date de naissance), le nom du service de soins dans lequel il est hospitalisé ainsi que la date de préparation et la date limite d'utilisation. Cette dernière ne correspond pas à la date de péremption fournie par le laboratoire qui concerne le médicament non reconstitué. Selon le chapitre 1 des BPP [9] : « la date limite d'utilisation des préparations terminées est fixée à la suite d'études bibliographiques et/ou d'essais de stabilité ».

Selon le chapitre 2 des BPP : « A côté des missions et exigences mentionnées ci-dessus, le pharmacien a d'autres attributions telles que […] le contrôle de la stabilité des produits »

Le rôle du pharmacien hospitalier est donc clairement établi.

I.3.3 Les enjeux économiques et pratiques : préparation à l'avance, gain de temps, économies, confort du patient et dose-banding

Ces études présentent des enjeux aussi bien économiques que pratiques. La stabilité d'un médicament reflète l'administration de la dose souhaitée du médicament, celui-ci ne s'étant pas dégradé dans les conditions fixées par l'étude. De plus, les données de stabilité obtenues pourront parfois permettre de réaliser les préparations à l'avance afin d'optimiser les conditions de travail et d'éviter la mobilisation de personnel pharmaceutique le dimanche ou les jours fériés, de réduire le temps d'attente et d'améliorer la qualité de vie des patients puisque ces préparations seront disponibles plus rapidement dans le service. L'étude menée par Duriez [3] a permis d'allonger à 8

jours la stabilité des seringues d'azacitidine (Vidaza®) dont les cures sont très contraignantes. En effet, il s'agit d'injection sous-cutanée à réaliser quotidiennement pendant 7 jours, suivie d'une période de repos de 21 jours. Le patient vient en Hôpital de Jour 7 jours consécutifs, or le temps entre la visite du médecin, la confirmation et la prescription de la cure de chimiothérapie, la validation par la pharmacie, la préparation, la dispensation et l'administration est parfois de plusieurs heures pour une injection ne prenant que quelques secondes ! La conclusion de ce travail est que la stabilité permet de préparer à l'avance les seringues nécessaires à la totalité de la cure d'un même patient. Les seringues sont décongelées à 8h30 chaque matin. Une fois décongelée, la seringue est stable 8 heures entre 2 et 8°C. Lorsque le patient arrive et que la cure est confirmée par le médecin, la seringue est d'emblée disponible et le patient n'attend plus.

D'autre part, la préparation à l'avance ou la réutilisation de flacons reconstitués la veille entraîne des économies. En effet, un flacon entamé pourra être réutilisé le lendemain pour une préparation différente si la stabilité de la poudre reconstituée le permet. De plus, une longue durée de stabilité peut amener à préparer à l'avance des doses standardisées et donc de regrouper les préparations un même jour afin de limiter le nombre de flacon utilisé. C'est le concept du dose-banding [23, 24]. Les anticancéreux étant des médicaments coûteux, voire très coûteux, des économies sont ainsi réalisées par les hôpitaux.

Par exemple, le bortézomib (Velcade®) est un traitement coûteux dont l'efficacité a révolutionné le traitement du myélome multiple. Selon le laboratoire, la stabilité n'est que de 8 heures à 25°C lorsqu'il est conditionné en seringues [25]. Il ne peut donc être préparé à l'avance. Une étude menée par Perissutti *et al.* [26] au Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Nancy a permis de démontrer que le bortézomib conditionné en seringues de propylène, à la concentration de 1mg/mL, est stable 14 jours à 25°C et 35 jours lorsque cette solution est conservée au réfrigérateur entre 2 et 8°C. Ceci permet maintenant de :

- Préparer à l'avance des doses nominatives par anticipation
- Préparer à l'avance des doses standardisées non nominatives (concept du dose-banding)
- De réattribuer des seringues non administrées en développant une procédure sécurisée de réétiquetage. Si la seringue préparée n'est pas administrée car l'injection est annulée ou reportée, la seringue peut être conservée 35 jours et être réattribuée.

Grâce à cette étude, au CHU de Nancy, les doses ont été standardisées par palier de 0,2 mg pour une gamme allant de 1,6 à 2,6 mg de bortezomib (figure 2).

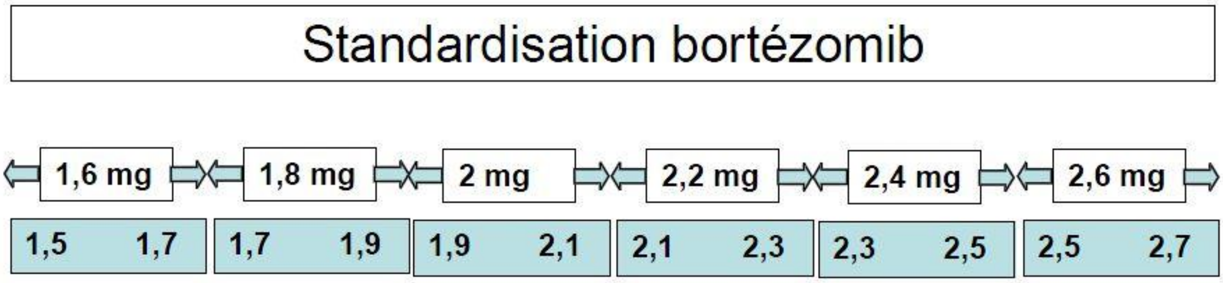


Figure 2 : schéma de standardisation des doses de bortézomib selon Perissutti [26]

Suite à l'autorisation de l'administration du bortezomib par voie sous-cutanée en 2012 par le Comité des Médicaments à Usage Humaine à la concentration de 2,5 mg/mL, une deuxième étude a été menée pour cette nouvelle concentration [27]. Donc, pour les voies sous-cutanée (SC) et intraveineuse (IV), les seringues sont préparées à l'avance de façon à ne pas jeter d'éventuels flacons entamés et réaliser ainsi des économies.

Le rôle des PUI dans la réalisation d'étude de stabilité est donc indiscutable. Cependant, pour prétendre à une étude de qualité, un certain nombre de critères sont à respecter.

II Étude de stabilité et recommandations

Pour le cas d'une préparation pharmaceutique, les objectifs d'une étude de stabilité sont de déterminer pendant combien de temps et dans quelles conditions peut se conserver cette préparation.

> **1.3. General Principles**
>
> The purpose of stability testing is to provide evidence on how the quality of a drug substance or drug product varies with time under the influence of a variety of environmental factors such as temperature, humidity, and light, and to establish a re-test period for the drug substance or a shelf life for the drug product and recommended storage conditions.

Figure 3 : Objectif d'une étude de stabilité selon l'ICH Q1A(R2)

> ***2.1.5. Specification***
>
> Specification, which is a list of tests, reference to analytical procedures, and proposed acceptance criteria, is addressed in ICH Q6A and Q6B. In addition, specification for degradation products in a drug substance is discussed in Q3A.
>
> Stability studies should include testing of those attributes of the drug substance that are susceptible to change during storage and are likely to influence quality, safety, and/or efficacy. The testing should cover, as appropriate, the physical, chemical, biological, and microbiological attributes. Validated stability-indicating analytical procedures should be applied. Whether and to what extent replication should be performed will depend on the results from validation studies.

Figure 4 : Qualité d'une étude de stabilité selon l'ICH Q1A(R2)

Sans indiquer de méthode spécifique, l'ICH Q1A(R2) précise que les méthodes choisies devront permettre d'explorer : la stabilité physique, chimique, biologique et microbiologique.

II.1 Quelles méthodes analytiques ?

Pour répondre à ces questions, il faut donc mettre en œuvre des techniques analytiques rigoureusement validées permettant :

- ✓ de doser la substance active pour suivre l'évolution de sa concentration au cours du temps
- ✓ de suivre l'évolution de la teneur en impuretés
- ✓ de déterminer le profil de dégradation de la substance active.

L'emploi d'une méthode permettant la séparation de la substance active et des impuretés présentes dans la solution s'avère indispensable. Hormis certaines situations, la titrimétrie ou la spectrophotométrie sont des techniques non séparatives qui ne doivent plus être utilisées.

Les techniques telles que la Chromatographie sur Couche Mince (CCM), l'Electrophorèse capillaire, la Chromatographie sur Couche Mince à Haute Performance, ou la Chromatographie Liquide à Haute Performance (CLHP) peuvent être employées [28-32]. La CLHP constitue la méthode de choix pour plusieurs raisons [28, 30] : sa compatibilité avec les solutions aqueuses et organiques, sa précision, la disponibilité de détecteurs hautement sensibles, sa capacité à détecter et quantifier des composés thermiquement instables aussi bien polaires qu'apolaires. Enfin, la CLHP permet de fournir des renseignements quantitatifs sur la substance active mais aussi sur le nombre de PD formés et leurs quantités respectives.

Afin de permettre aux auteurs de réaliser des études de stabilité de qualité, utilisant une méthode rigoureuse, il existe des recommandations internationales et plusieurs guides.

II.2 Recommandations internationales

II.2.1 Pharmacopée, Food and Drug Administration

La description de méthodes analytiques de dosage relatives à de nombreuses substances sont disponibles dans les monographies disponibles à la Pharmacopée Européenne. Ces monographies fournissent des méthodes d'emblées considérées comme validées et peuvent être utilisées pour mener une étude de stabilité. Toutefois, ces monographies ne concernent, la plupart du temps, pas des produits finis et ne sont donc pas systématiquement applicables au cas d'une préparation pharmaceutique. De plus, tous les médicaments ne possèdent pas une monographie, en particulier les anticancéreux récemment mis sur le marché. En 1984, la Food and Drug Administration (FDA) présente les premières recommandations pour les études de stabilité. Celles-ci ont été révisées à plusieurs reprises [33-34].

En 1994, Hagan [35] rappelle les grands principes de la CLHP et les éléments indispensables à une bonne étude de stabilité :

- Une recherche bibliographique : elle permet de vérifier l'utilité de l'étude à mener mais aussi de vérifier que la méthode utilisée est appropriée
- Un équipement de qualité et dont la maintenance est régulièrement effectuée et contrôlée
- Une séparation performante : ceci passe par la détermination des différents paramètres de la CLHP comme la résolution, la sélectivité, l'efficacité.

- Une méthode rigoureusement validée

II.2.2 ICH Guidelines

La Conférence Internationale sur l'Harmonisation des exigences techniques pour l'enregistrement des médicaments à usage humain (ou *International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use, ICH*) est une structure créée en 1990. Sa mission est d'harmoniser les données et les règlements et de s'assurer ainsi de la sûreté, de la qualité et de l'efficacité des médicaments enregistrés. Elle rassemble ainsi les autorités règlementaires et les représentants de l'industrie pharmaceutique d'Europe, des Etats-Unis et du Japon. Les ICH guidelines sont regroupées en 4 grands domaines : *Quality Guidelines, Safety Guidelines, Efficacy Guidelines, Multidisciplinary Guidelines*. Les recommandations [36] relatives aux études de stabilité appartiennent aux *Quality Guidelines* et sont les suivantes :

- Stability testing of new drugs products and substances – ICH Q1A(R2) [6]
- Stability testing : Photostability testing of new drugs products and substances – ICH Q1B [37]
- Stability testing : Stability testing for new dosage forms – ICH Q1C [38]
- Evaluation of stability data – ICH Q1E [39]
- Validation of analytical procedures : text and methodology – ICH Q2(R1) [40]
- Impurities in new drug substances – ICH Q3A(R2) [41]
- Impurities in new drug products – ICH Q3B(R2) [42]
- Stability testing of biotechnological/biological products – ICH Q5C [43]
- Specifications : Test procedures and acceptance criteria for new drug substances and new drug products : chemical substances – ICH Q6A [44]
- Specifications : Test procedures and acceptance criteria for biotechnological/biological products – ICH Q6B [45]

II.2.3 Conférence de consensus européenne

Bien que très détaillées, ces différentes recommandations ne sont pas toujours adaptées à la réalisation d'une étude de stabilité par une PUI et sont plutôt destinées à l'industrie. Pour guider les pharmaciens hospitaliers, une conférence de consensus européenne s'est tenue en France en mai 2010 débouchant sur l'élaboration de recommandations européennes pour le cas particulier des études de stabilité des médicaments anticancéreux [28], à l'initiative de la Société Française de

Pharmacie Oncologique (SFPO) : "*Guidelines for the practical stability studies of anticancer drugs: A European consensus conference*". Celle-ci est beaucoup plus adaptée aux pharmaciens hospitaliers et leur est totalement destinée. Elle résume tous les critères devant être abordés : la stabilité physique, chimique, biologique aussi bien pour les molécules dites « classiques » que pour les protéines et guide le lecteur pour le design à respecter pour mener une étude de stabilité de qualité optimale.

II.2.4 Guide méthodologique des études de stabilité des préparations

Enfin, la Société Française de Pharmacie Clinique (SFPC) et le Groupe d'Evaluation et de Recherche sur la Protection en Atmosphère Contrôlée (GERPAC) ont rédigé en collaboration un Guide Méthodologique des Etudes de Stabilité des Préparations [46].

II.3 Critères à remplir selon les recommandations

II.3.1 Stabilité physique

La dégradation d'un médicament ne se décrit pas uniquement par une perte de teneur en substance active, il peut s'agir dans certains cas de changements physiques comme l'apparition ou la modification de la couleur, la formation de précipités ou de cristaux. L'apparence, les caractères organoleptiques, la taille des particules font donc partie intégrante des éléments à examiner pour la détermination de la stabilité.

Pour les solutions destinées à la voie parentérale, les évènements pouvant survenir sont :

- Une décoloration due à des réactions photochimiques ou d'oxydation
- L'apparition d'un précipité
- L'apparition de « *whiskers* »

Au-delà de l'apparence, ces phénomènes peuvent entraîner des changements dans la biodisponibilité de la solution, la pharmacocinétique et l'efficacité du traitement.

Pour les suspensions, les changements décrits sont :

- La sédimentation
- L'agglutination («*caking »*)
- L'augmentation de la taille des cristaux

L'ICH Q1A(R2) cite également le cas de la séparation de phase et de remise en suspension.

Ces phénomènes peuvent parfois être mis en évidence par un simple examen visuel.

II.3.1.1 Examen visuel

La recherche de particules visibles (> 0,2 µm) correspond aux tests spécifiques 2.2.1 [47] et 2.9.20 [48] de la Pharmacopée Européenne. Toutefois, les monographies de la Pharmacopée concernent des matières premières et non des produits finis comme c'est le cas dans les études de stabilité. Ces tests ne sont donc quasiment jamais pratiqués dans les publications. L'examen visuel consiste le plus souvent à analyser à l'œil nu la solution : couleur, limpidité, recherche de cristaux ou de précipité et fournit des éléments de réponse importants quant à la stabilité physique.

Bien qu'indispensable, cet examen visuel n'est pas suffisant.

II.3.1.2 Examen subvisuel

La formation de microparticules, d'agrégats, ou de précipités subvisuels peuvent entraîner une perte d'efficacité du traitement mais surtout des risques d'embolie mettant directement le patient en danger. La formation de micro-agrégats est un signe d'instabilité de la solution qui peut précipiter plus tard ou dans la tubulure de perfusion.

Le test 2.9.19 [49] de la Pharmacopée Européenne définit la contamination particulaire comme l'introduction involontaire de particules étrangères, non dissoutes et mobiles, autres que des bulles de gaz, à rechercher par un essai de comptage des particules par obstruction de la lumière et/ou par microscopie optique. Ces méthodes sont de très bons indicateurs de la stabilité physique mais sont également coûteuses et difficiles à mettre en œuvre pour une pharmacie hospitalière. La turbidimétrie peut également être employée à cet effet et présente l'avantage d'être plus abordable.

La conférence de consensus européenne recommande un examen subvisuel plus systématique, basé sur la turbidimétrie pour toutes les études de stabilité de médicaments anticancéreux en solution lorsque les autres méthodes comme l'obstruction de la lumière ne sont pas possible [28].

II.3.2 Stabilité chimique : tests généraux

Les principales réactions de dégradation chimique en cause sont :

- L'hydrolyse

L'hydrolyse est le mécanisme de dégradation le plus commun. Elle survient essentiellement si la molécule est un dérivé d'acide carboxylique comme un ester, un amide, une lactone, un lactame, un imide ou un carbamate. Elle dépend du pH et de la force ionique. L'hydrolyse est une réaction lente mais en milieu acide (catalyse acide) ou alcalin (catalyse basique), la vitesse de réaction augmente et des décompositions significatives peuvent apparaître.

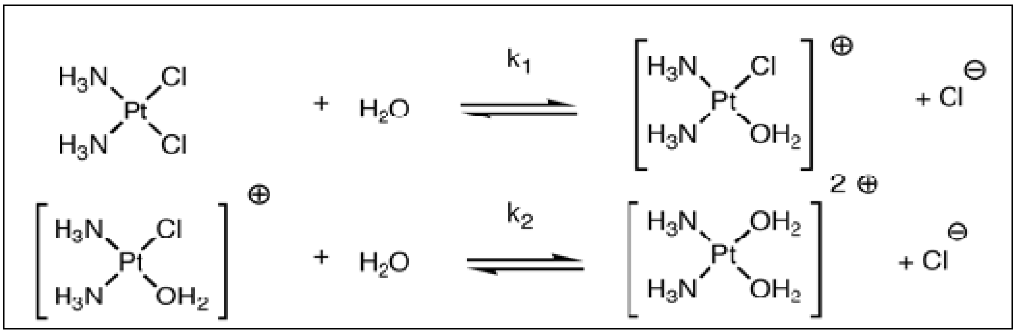


Figure 5 : réaction d'hydrolyse du Cisplatine

- L'oxydation : elle est la cause majeure de dégradation des médicaments contenant un groupement phénolique, un sulfure, un éther, un thiol, un aldéhyde, ou des insaturations. C'est également le cas des amines aromatiques et aliphatiques. Les ions métalliques peuvent favoriser ces réactions d'oxydation.
- Autres réactions : isomérisation, épimérisation, polymérisation, photolyse.

Ces différentes réactions chimiques conduisent à une dégradation de la molécule, c'est-à-dire à une diminution de la teneur en substance active et en parallèle, une apparition ou une augmentation de la teneur en PD. Les techniques citées précédemment, notamment la CLHP vont permettre de séparer ces constituants pour ensuite les doser et suivre leur évolution en fonction du temps. D'autres tests plus généraux permettent également d'obtenir des informations relatives à la stabilité chimique.

II.3.2.1 pH

La variation de pH est un test simple et classique, indiquant une éventuelle instabilité chimique. Selon l'ICH Q6A, "*Acceptance criteria for pH should be provided where applicable and the proposed range justified*" [44]. Dans cette recommandation, aucune variation maximale n'est spécifiée. Les variations de pH ne s'interprètent donc pas facilement et il faut garder à l'esprit que le pH est une échelle logarithmique :

$$pH = - \log [H_3O+] \qquad \text{et} \qquad [H_3O+] = 10^{-pH}$$

Ainsi une diminution d'une unité de pH correspond à une multiplication par 10 de la concentration en protons.

II.3.2.2 Bilan massique

La loi de conservation de la matière, ou principe de masse, s'applique pour toute réaction chimique se produisant dans un système clos comme une seringue ou une poche contenant une préparation de médicament anticancéreux : la masse des produits est égale à la masse des réactifs. Ainsi en CLHP, la surface du pic du médicament à l'étude à T0 équivaut à la somme des surfaces des pics du médicament et de ses PD à la fin de l'étude, à conditions qu'ils possèdent tous des chromophores.

II.3.2.3 Perte d'eau par évaporation

Pour les solutions conditionnées en poches en PVC, une évaporation peut avoir lieu à travers la paroi, entraînant une augmentation de la concentration des substances en solutions. Une augmentation de la concentration en substance active passant par exemple de 100% à 115% accompagnée d'une perte de masse sont les résultats typiquement obtenus dans ce cas.

II.3.2.4 Osmolalité

L'osmolalité représente le nombre de particules osmotiquement actives par kilogramme d'eau.

Une variation d'osmolalité peut correspondre à l'apparition de nouvelles entités chimiques dans la solution, et donc probablement de PD.

II.3.3 Stabilité chimique : chromatographie liquide à haute performance

L'emploi d'une méthode séparative est essentiel pour déterminer la stabilité chimique d'une préparation, dont la technique de choix est la CLHP.

La technique choisie doit absolument permettre de séparer la substance principale de ses PD et des autres impuretés. On parle de méthode indicatrice de stabilité ou encore de "*Stability-indicating assay methods*" (SIAMS).

II.3.3.1 Capacité indicatrice de Stabilité ou "stability indicating capability"

La FDA [33] fournit une définition des SIAMS dès 1998 qui sera repris par Bakshi et Singh [29] en 2002 :

> *"A stability-indicating assay is a validated quantitative analytical procedure that can detect the changes with time in the pertinent properties of the drug substance and drug product. A stability-indicating assay accurately measures the active ingredients, without interference from degradation products, process impurities, excipients, or other potential impurities. (...) Assay analytical procedures for stability studies should be stability-indicating, unless scientifically justified."*

Il s'agit donc de la capacité de la méthode à détecter et quantifier tout changement dans les propriétés physiques, chimiques, biologiques et microbiologiques, du médicament à l'étude et de ses PD, sans aucune interférence. En effet, le fait de ne pas voir de PD sur le chromatogramme ne signifie pas forcément qu'aucun PD ne s'est formé mais peut signifier que la méthode utilisée ne permet pas de les détecter, il convient donc de s'en assurer [50-51].

Pour prouver que la méthode employée est "*stability-indicating*", un raisonnement en 7 étapes est présenté par Bakshi et Singh [29]

- Etape 1 : étude critique et bibliographique de la structure chimique du médicament à l'étude

L'étude de la structure chimique et des groupements fonctionnels du médicament anticancéreux permet d'anticiper les PD qui seront formés et par quelles voies. Nous avons en effet vu que les groupements tels que les esters, les amides ou les lactones sont très sujets à l'hydrolyse et les thiols, les éthers et les aldéhydes à l'oxydation.

Lorsque l'étude de stabilité porte sur un nouveau médicament mis sur le marché appartenant à une classe où de nombreuses molécules sont déjà connues, cette étape est particulièrement intéressante car certaines voies de dégradation sont communes [51].

- Etape 2 : recueil des propriétés physicochimiques du médicament

D'autres renseignements facilement obtenus seront déterminants pour le développement de la méthode comme par exemple la solubilité, le pKa, ou le maximum d'absorption dans le spectre ultraviolet (UV) de la molécule. Le pKa déterminera ainsi le choix de la solution tampon contenue dans la phase mobile et le pH de celle-ci. La solubilité et la polarité détermineront le solvant à utiliser pour la phase mobile.

- Etape 3 : étude de dégradation forcée

L'étape cruciale dans le développement des SIAMS est la réalisation d'une dégradation forcée. L'objectif de la dégradation forcée du médicament dont on veut analyser la stabilité est d'une part de prouver l'aspect "*stability-indicating*" de la méthode employée, et d'autre part d'évaluer rapidement l'influence de différents paramètres sur la stabilité de la molécule, comme le pH, la température ou la lumière [28]. La dégradation forcée ou "*stress testing*" de la molécule permet enfin de prévoir les produits et les voies de dégradation qui pourraient survenir [31, 52].

Stability Testing of New Drug Substances and Products

Stress testing of the drug substance can help identify the likely degradation products, which can in turn help establish the degradation pathways and the intrinsic stability of the molecule and validate the stability indicating power of the analytical procedures used. The nature of the stress testing will depend on the individual drug substance and the type of drug product involved.

Stress testing is likely to be carried out on a single batch of the drug substance. It should include the effect of temperatures (in 10°C increments (e.g., 50°C, 60°C, etc.) above that for accelerated testing), humidity (e.g., 75% RH or greater) where appropriate, oxidation, and photolysis on the drug substance. The testing should also evaluate the susceptibility of the drug substance to hydrolysis across a wide range of pH values when in solution or suspension. Photostability testing should be an integral part of stress testing. The standard conditions for photostability testing are described in ICH Q1B.

Figure 6 : Réactions de dégradation forcée ou "stress testing" selon l'ICH Q1A(R2)

La dégradation forcée doit évaluer en principe l'effet de la chaleur, de l'humidité, des pH extrêmes (hydrolyse à catalyse acide ou basique), de l'oxydation et de la lumière. Le choix des réactions utilisées dépend bien-sûr de la forme galénique de la préparation à analyser, des exemples de protocoles de dégradation forcée sont présentés dans les tableaux II, III et IV [53-55].

Tableau II : Exemple de protocoles de dégradation forcée selon Reynolds et al. [54]

	Drug Substance		Drug Product	
Condition	Solid	Solution/ Suspension	Solid (Tablets, Capsules, Blends)	Solution (IV, Oral Suspension)
Acid/base		✓		X
Oxidative	X	✓	✓	✓
Photostability	✓	X	✓	✓
Thermal	✓		✓	✓
Thermal/humidity	✓		✓	

*✓ = recommended; X = optional, suggested for some compounds.

Tableau III : Exemple de protocoles de dégradation forcée selon Ngwa [53]

Degradation Type	Experimental Condition	Storage Condition	Sampling Time
Hydrolysis	Control API (no acid or base)	40 °C, 60 °C	1, 3, 5 days
	0.1N HCl	40 °C, 60 °C	1, 3, 5 days
	0.1N NaOH	40 °C, 60 °C	1, 3, 5 days
	Acid Control (no API)	40 °C, 60 °C	1, 3, 5 days
	Base Control (no API)	40 °C, 60 °C	1, 3, 5 days
	pH: 2, 4, 6, 8	40 °C, 60 °C	1, 3, 5 days
Oxidative	3% H_2O_2	25 °C, 40 °C	1, 3, 5 days
	Peroxide Control	25 °C, 40 °C	1, 3, 5 days
	Azobisisobutyronitrile (AIBN)	40 °C, 60 °C	1, 3, 5 days
	AIBN Control	40 °C, 60 °C	1, 3, 5 days
Photolytic	Light, 1 X ICH	NA	1, 3, 5 days
	Light, 3 X ICH	NA	1, 3, 5 days
	Light control	NA	1, 3, 5 days
Thermal	Heat Chamber	60 °C	1, 3, 5 days
	Heat Chamber	60 °C / 75% RH	1, 3, 5 days
	Heat Chamber	80 °C	1, 3, 5 days
	Heat Chamber	80 °C / 75% RH	1, 3, 5 days
	Heat Control	Room Temp.	1, 3, 5 days

Tableau IV : Exemple de protocoles de dégradation forcée selon Swartz et Krull [55]

Table I: Common conditions used in forced degradation studies. Acid and base solutions should be neutralized before analysis. Initial sample concentrations in the range of 1–10 mg/mL normally are used.

Study	Conditions
Acidic pH	0.1 N HCl
Neutral pH	pH 7.0 phosphate buffer
Basic pH	0.1 N sodium hydroxide
Oxidation	O_2 Atmosphere, or H_2O_2
Photolysis (UV)	1000 Watt h/m^2 (Ref. 2)
Photolysis (fluorescence)	6 × 10^6 lux h (Ref. 2)

Idéalement, les réactions mises en œuvre ne doivent pas totalement dégrader la substance à analyser, ce qui révèlerait des PD secondaires voire tertiaires qui ne seront jamais obtenus en conditions réelles. La dégradation doit être de l'ordre de 5 à 10% selon Riddhiben [31] et Swratz et Krull [55] ; de 10% selon Ngwa [53] et Reynolds [54], ou encore de 5 à 20% selon Baertschi [56].

Nous retiendrons les recommandations établies par la conférence de consensus européenne [28] : la situation idéale est de dégrader environ 20 à 30% du médicament et d'obtenir les PD clairement séparés du médicament intact. Les réactions à mettre en œuvre sont la dégradation à l'acide chlorhydrique (HCl) pour obtenir un pH = 3, et à l'hydroxyde de sodium (NaOH) pour obtenir un pH = 9. La dégradation par la chaleur se fait progressivement à partir de 50°C et en augmentant par

paliers de 10°C. La dégradation à la lumière doit être évaluée ainsi que les conditions d'oxydation par le peroxyde d'hydrogène de 3 à 30%.

➢ Etape 4 : Etudes préliminaires sur les échantillons dégradés

Les échantillons ainsi stressés vont ensuite être injectés dans le système chromatographique pour des études préliminaires consistant à évaluer le nombre et le type de PD formés. La CLHP en phase inverse est la plus employée, avec des colonnes de type octadécyl. Normalement, la durée totale de l'analyse doit être de 2,5 fois le temps de rétention du pic du médicament afin de détecter des produits éventuellement éludés longtemps après celui-ci [29].

La figure 7 montre l'exemple de la dégradation forcée du bortezomib réalisée par Perissutti et al. [26]. Il s'agit de la superposition des chromatogrammes obtenus après chaque mode de dégradation : dégradation en milieu acide chaud par HCl 1N, dégradation en mileu basique par NaOH 1N et 5N, dégradation par la chaleur à 60°C, dégradation oxydative par HClO à 0,00096%, 0,0096% et 0,096%. Sur ce chromatogramme le pic de bortezomib présente un temps de rétention de 22,7 minutes. Tous les autres pics correspondent à des PD identifiés par leur rétention relative.

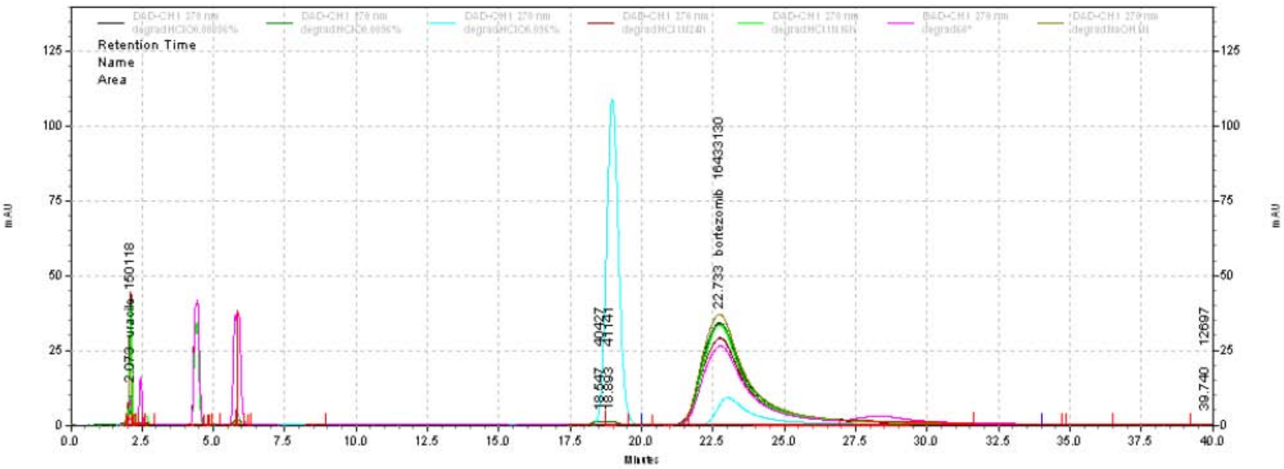


Figure 7 : dégradation forcée du bortezomib selon Perissutti et al. [26]

Il peut arriver qu'aucun PD ne soit obtenu malgré le stress infligé aux échantillons. Plusieurs explications sont données par Baertschi [56] :

– Les PD ne sont pas élués de la colonne

– Les PD ne sont pas détectés par le détecteur employé (par exemple pas de chromophores pour un détecteur UV)

– Les PD ne se trouvent plus dans la matrice de l'échantillon (par exemple dû à leur volatilité ou une extraction)

–Les PD sont co-élués avec une molécule parente et les pics ne se distinguent pas

–Les PD ne sont pas intégrés par le système chromatographique

- Etape 5 : Finalisation et optimisation de la méthode

Les temps de rétention et les rétentions relatives du pic principal et des PD seront enregistrés dans le système pour ensuite permettre d'identifier tous ces composés sur les chromatogrammes des échantillons à analyser. Les pics doivent être de bonne qualité et correctement séparés, ce qui correspond aux grandeurs chromatographiques habituelles que sont la symétrie et la résolution. Pour garantir une séparation optimale et optimiser la méthode, le manipulateur peut modifier différents paramètres comme le débit de la phase mobile, le pH, la température, le choix du solvant, le type de colonne ou passer d'un mode isocratique à une méthode avec gradient.

A la fin de cette étape, les échantillons à analyser sont préparés, prêts à être injectés dans le système chromatographique.

- Etape 6 : Identification et caractérisation des PD puis préparation des échantillons standards

Le but de la 6ème étape du raisonnement est d'identifier les PD. En effet, avec l'efficacité, la qualité et la sécurité sont les points fondamentaux de tout traitement médicamenteux. La toxicité d'un médicament peut provenir de son profil pharmaco-toxicologique mais aussi des impuretés naturellement présentes dans la formulation [52, 56-59]. La définition du profil d'impuretés est donné par les ICH [41] comme "*a description of the identified and unidentified impurities, present in a new drug substance*", le but étant de détecter, d'identifier, de déterminer la structure des impuretés. Les impuretés sont classées en trois catégories par les ICH : les impuretés organiques (dont font partie les PD), les impuretés inorganiques et les solvants résiduels. Ceci prouve l'importance de la détection et de l'identification des PD dans une étude de stabilité.

Pour identifier les produits élués, la méthode conventionnelle est de les isoler et de déterminer leur structure [29]. Les techniques employées sont la Spectrométrie de Masse (SM), la Résonnance Magnétique Nucléaire (RMN) ou la spectroscopie Infrarouge (IR) qui sont parfois longues à réaliser et coûteuses. Le cas idéal est le couplage de la CLHP à la SM présentant une sensibilité et une spécificité excellentes. Certaines PUI peuvent être équipées d'un détecteur IR et/ou d'une SM mais toutes ne le sont pas. Les détecteurs UV mais surtout les détecteurs à barrette de diodes (*Diode-array detector* DAD) restent donc les détecteurs de choix pour les études de stabilité. Le spectre UV de chaque pic est ainsi collecté et enregistré, ainsi que les temps de rétention et les rétentions relatives. Pour certains PD, les spectres UV, IR ou les rétentions relatives peuvent être comparés à des standards lorsqu'ils sont disponibles.

La recherche et l'identification des PD doit représenter une préoccupation essentielle du pharmacien réalisant son étude de stabilité. En effet, ceux-ci sont parfois plus toxiques que la substance active ou les excipients utilisés [60]. Les médicaments anticancéreux étant déjà très toxiques par eux-mêmes, les PD ne doivent pas être négligés et le pharmacien ne peut se contenter d'un dosage du principe actif.

- Etape 7 : validation de la SIAM

La 7ème et dernière étape est la validation de la méthode. L'ICH Q2(R1) "*Validation of Analytical Procedures : Text and Methodology*" y est totalement consacrée [40] ainsi que le guide de la FDA [33]. L'objectif principal de la validation est d'établir la sélectivité et la spécificité de la méthode, ainsi que la détermination de nombreux paramètres comme l'exactitude, la précision, la linéarité, la robustesse, les limites de détection et de quantification. Le tableau V est extrait de l'ICH Q2(R1) et rappelle les paramètres nécessaires à la validation de la méthode.

Tableau V : Caractéristiques nécessaires à la validation de méthode selon l'ICH Q2(R1) [40]

Validation of Analytical Procedures: Text

TABLE

Type of analytical procedure characteristics	IDENTIFICATION	TESTING FOR IMPURITIES quantitat.	 limit	ASSAY - dissolution (measurement only) - content/potency
Accuracy	-	+	-	+
Precision				
Repeatability	-	+	-	+
Interm.Precision	-	+ (1)	-	+ (1)
Specificity (2)	+	+	+	+
Detection Limit	-	- (3)	+	-
Quantitation Limit	-	+	-	-
Linearity	-	+	-	+
Range	-	+	-	+

- \- signifies that this characteristic is not normally evaluated
- \+ signifies that this characteristic is normally evaluated
- (1) in cases where reproducibility (see glossary) has been performed, intermediate precision is not needed
- (2) lack of specificity of one analytical procedure could be compensated by other supporting analytical procedure(s)
- (3) may be needed in some cases

II.3.3.2 Spécificité

La spécificité d'une méthode est sa capacité à détecter sans équivoque l'analyte en présence d'autres composants comme les impuretés, les excipients ou les PD.

Par exemple Duriez et al. [3] ont analysé un échantillon de mannitol qui est le seul excipient de la suspension de Vidaza ® et un de diméthylsulfoxyde (DMSO), solvant de cette suspension.

II.3.3.3 Linéarité

La linéarité d'une méthode est sa capacité, dans un intervalle donné, à fournir des résultats directement proportionnels à la concentration de l'analyte dans l'échantillon. Elle passe la plupart du temps par la détermination de l'équation du type $y = ax + b$, associée à un coefficient de

corrélation R^2 devant être environ égal à 1. Cette droite est déterminée par régression linéaire ou par la méthode des moindres-carrés.

Dans certains cas, la corrélation n'est pas linéaire et il faut travailler en quadratique avec une équation du type $y = ax^2 + bx + c$.

II.3.3.4 Exactitude

L'exactitude (*accuracy*) représente l'étroitesse de l'accord entre une valeur mesurée et la valeur vraie de référence.

II.3.3.5 Précision

La précision, aussi appelée fidélité, est l'étroitesse de l'accord entre une série de mesures répétées d'un même objet, dans des conditions spécifiées. Elle comprend trois niveaux : la répétabilité, la précision intermédiaire et la reproductibilité, exprimées comme la variance, la déviation standard ou le coefficient de variation (CV) d'une série de mesures [40, 61].

- Répétabilité ou précision intra-essai : elle représente l'étroitesse de l'accord entre les résultats d'analyses indépendantes, obtenus avec la méthode considérée sur un même produit, dans le même laboratoire, avec le même opérateur utilisant le même matériel, dans un court intervalle de temps. Elle s'apprécie par la moyenne, l'écart-type de répétabilité et le CV intra-série, également appelé "*within-day*".
- Précision Intermédiaire : représente les variations au sein d'un laboratoire. Elle s'apprécie par la moyenne, l'écart-type de reproductibilité et le CV inter-série, également appelé "*between-day*".
- Reproductibilité ou précision inter-essai : elle exprime la précision entre différents laboratoires.

II.3.3.6 "Range"

Il s'agit de l'intervalle entre la plus faible et la plus forte concentration de l'analyte dans l'échantillon, dans lequel il a été démontré que la méthode analytique présente des niveaux acceptables de précision, exactitude et linéarité.

II.3.3.7 Limites de détection

La limite de détection est propre à chaque procédure et correspond à la plus faible quantité (concentration) d'analyte dans un échantillon pouvant être détectée mais pas nécessairement quantifiée.

II.3.3.8 Limite de quantification

La limite de quantification est propre à chaque procédure et correspond à la plus faible quantité (concentration) d'analyte dans un échantillon pouvant être déterminée quantitativement avec exactitude et précision. Elle est particulièrement utilisée pour déterminer la teneur des composés présents en faible concentration comme les PD et les autres impuretés.

II.3.3.9 Robustesse

La robustesse de la méthode est sa capacité à ne pas être affectée par des variations faibles et délibérées de certains paramètres de la méthode.

II.3.3.10 Limite de stabilité

Comme nous l'avons vu dès le paragraphe I.1, la limite de stabilité est souvent fixée à 90% de la concentration initiale. Cependant, les anticancéreux sont des médicaments dont l'efficacité dépend de la dose réellement administrée au patient et pouvant présenter une très forte toxicité. Les ICH ainsi que la conférence de consensus européenne recommandent de considérer une variation de 5% par rapport à la valeur initiale comme un changement significatif et donc de fixer la limite à 95% de la concentration initiale, sauf exception justifiée [28, 40].

II.4 Stabilité des produits issus des biotechnologies

Les produits issus des biotechnologies sont des macromolécules de structure protéique dont l'activité et l'efficacité dépendent non seulement de la structure primaire (enchaînement d'acides aminés), mais aussi de leur structure tridimensionnelle (structures secondaire, tertiaire et quaternaire). Les anticorps monoclonaux (*Monoclonal Antibody* : MAB) ou certaines protéines enzymatiques comme la L-asparaginase sont soumis à des voies de dégradation extrêmement nombreuses et complexes. La détermination de leur stabilité est un problème dont l'importance ne va cesser de s'amplifier en raison de la part grandissant des biothérapies sur le marché. En effet, les MAB sont de plus en plus nombreux et ont parfois révolutionné la prise en charge de certaines pathologies cancéreuses ou auto-immunes [62-63].

Les études de stabilité des produits issus des biotechnologies ne peuvent donc se limiter aux critères présentés pour les molécules classiques. Les recommandations pour les essais de stabilité des médicaments anticancéreux de la conférence de consensus européenne [28] présentent un paragraphe destiné au cas des protéines, notamment les MAB. De même les ICH Q5A – Q5E sont totalement consacrées aux produits biotechnologiques, et plus spécifiquement, l'ICH Q5C [43] qui fournit des recommandations pour les études de stabilité de ces produits.

Le développement des MAB est également bien plus compliqué que celui d'une molécule classique et de nombreuses difficultés surviennent au cours des étapes de séparation, purification et formulation. La détermination des conditions d'administration, de stockage et de la durée de conservation nécessitent des études de stabilité dont le design diffère totalement de celles relatives aux médicaments de bas poids moléculaire.

La conformation d'une protéine peut changer subtilement si elle est exposée à un stress physique ou chimique [28]. Les voies de dégradation des MAB incluent des altérations physiques et chimiques, qui peuvent parfois être interdépendantes [63-72].

II.4.1 Instabilité physique des protéines

L'instabilité physique correspond à tous les procédés induisant un changement de l'état physique de la protéine, sans aucune modification dans sa composition chimique. Les principaux modes de dégradation physique sont la dénaturation l'agrégation, la précipitation, l'adsorption sur les surfaces, le dépliage des protéines [65].

II.4.1.1 Dénaturation des protéines

La dénaturation des protéines décrit la perte de la structure globulaire tridimensionnelle que la plupart des protéines adopte [63]. Elle peut survenir par l'action de la chaleur ou au contraire du froid, ou encore de la pression.

II.4.1.2 Agrégation des protéines

Un agrégat peut être formé par des liaisons covalentes ou non-covalentes. Sa formation peut être réversible ou irreversible, et il peut être soluble ou insoluble [71].

L'agrégation des protéines est probablement le mode de dégradation physique le plus étudié des protéines et peut avoir de fortes conséquences en termes de perte d'efficacité ou d'apparition de toxicité [64-65, 68, 73-74]. L'origine la mieux connue de l'agrégation est le stress physique induit par exemple par l'agitation, la chaleur, les forces de cisaillement, ou l'exposition à une interface gaz/liquide pouvant survenir aux étapes de préparation, de conditionnement, de transport ou d'administration.

Les conséquences de l'agrégation sont une diminution de l'efficacité, mais aussi une augmentation de l'immunogénicité, selon les 2 mécanismes présentés dans le tableau VI : par réaction néo-antigène et par rupture de la tolérance immune. L'apparition d'immunoglobulines anti-anticorps peut en effet neutraliser l'action du médicament mais peut également être à l'origine de phénomènes immunoallergiques, voire dans certains cas la survenue d'un choc anaphylactique potentiellement létal [73-79].

Tableau VI : mécanismes expliquant l'immunogénicité

	Réaction neo-antigènes	**Rupture de tolérance**
Types de réaction	Immédiate, Réaction anaphylactique aigue	Lent, après traitement de longue durée, liaison aux anticorps, disparait à l'arrêt du traitement
Causes	Epitopes antigéniques (principalement impuretés)	Principalement impuretés et agrégats

Il existe trois voies principalement décrites pour l'agrégation [68] :

- par le biais d'un dépliage de la protéine, conduisant à un état intermédiaire I
- l'agrégation directe par des associations entre protéines ou des liaisons chimiques
- l'agrégation par le biais de réactions chimiques de dégradation.

La réversibilité de l'agrégation se caractérise par la possibilité de dissocier les agrégats. Les premières étapes (de N à A sur la figure 8) de l'agrégation peuvent être réversibles mais c'est rarement le cas pour les étapes finales.

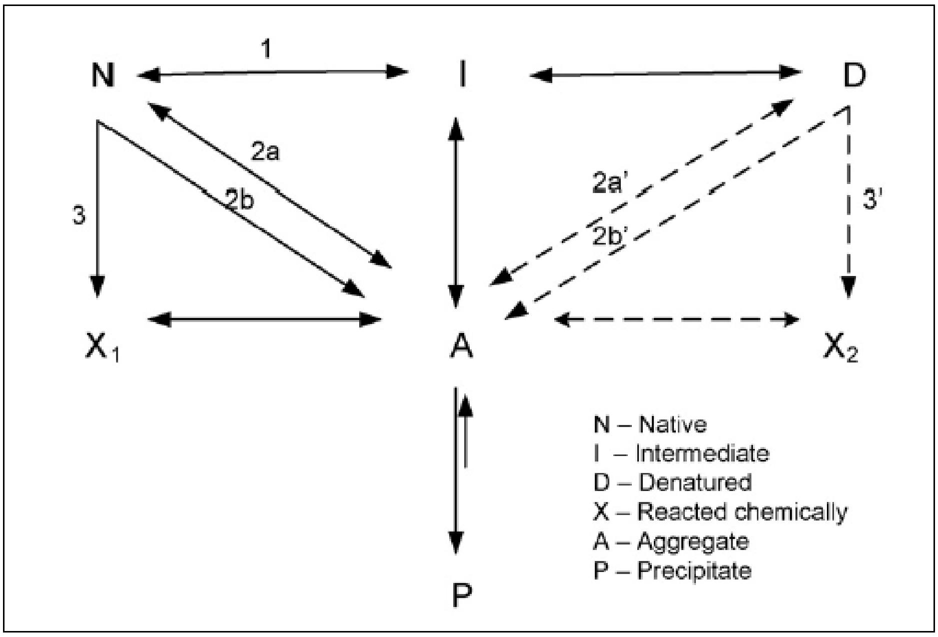


Figure 8 : Les 3 voies conduisant à l'agrégation des protéines selon Wang *et al.* [68]

L'agrégation dépend également de facteurs extrinsèques comme le pH, la température ou la concentration en protéines. Enfin, les agrégats sont essentiellement liés à une augmentation de l'exposition de l'anticorps en solution à l'interface liquide/air et sont formés sans altération

chimique [64]. Par conséquent, lorsque des bulles sont présentes dans la poche de la préparation pharmaceutique, la surface de l'interface augmente, ce qui induit la formation d'agrégats. En revanche, la nature du gaz ne semble pas influer sur la formation d'agrégat. Les stress thermique et mécanique sont donc à l'origine des principaux mécanismes d'instabilité physique.

II.4.1.3 Précipitation des protéines

Lorsque l'on parle d'agrégation, il s'agit en principe d'agrégats non visibles à l'œil nu. En revanche si ce phénomène se poursuit, les agrégats formés deviennent de plus en plus gros et insolubles provoquant des manifestations macroscopiques. On parle alors de précipitation. Cette étape finale est présentée sur la figure 8 (de A vers P), qui met en évidence les relations entre les phénomènes de dénaturation, d'agrégation et de précipitation.

II.4.1.4 Adsorption sur les surfaces

Les interfaces entre deux phases distinctes comme les interfaces air/eau, solide/liquide sont des sites potentiels d'adsorption des produits biopharmaceutiques [67].

L'adsorption et l'agrégation sont deux phénomènes survenant préférentiellement aux interfaces air/liquide, d'où la recommandation de ne pas former de bulles ni de trop agiter les préparations contenant des MAB.

II.4.2 Instabilité chimique des protéines

Les principales réactions de dégradation chimique sont :

- La désamidation : c'est la plus commune des voies de dégradation chimique. Elle est fortement dépendante du pH, de la température et de la force ionique. Elle concerne essentiellement les acides aminés asparagine et glutamine. Elle peut être à l'origine de PD et augmente l'immunogénicité [28, 65].
- La formation ou la rupture de ponts disulfures
- L'oxydation

Le taux d'oxydation dépend de facteurs intrinsèques (structure globale de la protéine, flexibilité) et extrinsèques (pH, type de tampons utilisés). L'oxydation des protéines est classiquement séparée en deux catégories : site-spécifique (oxydation catalysée par les ions métalliques par exemple) ou non-spécifique (photooxydation) [65].

- L'hydrolyse
- L'isomérisation, la racémisation et la β-élimination
- La déglycosylation

- La Réaction de Maillard ou glycation : elle survient lorsque la protéine est en présence d'un sucre réducteur. Une base de Schiff se forme pour ensuite se réarranger en produits plus stable. Cette réaction est l'une des raisons qui pousse les scientifiques à éviter l'utilisation de sucres (glucose, lactose, fructose et maltose) dans la formulation [67].

II.4.3 Principales causes d'instabilité – comment améliorer la stabilité des protéines ?

De nombreuses voies de dégradation précédemment citées dépendent elles-mêmes de la température, du pH, de la présence d'oxygène, de l'agitation et de la concentration. Ces différents paramètres représentent donc les principales causes d'instabilité.

Pour améliorer la stabilité des protéines, il existe plusieurs pistes comme l'ajout de surfactants (polysorbate par exemple), d'osmolytes (additifs de petit poids moléculaire améliorant la stabilité conformationnelle des protéines), ou le choix de tampons appropriés.

La lyophilisation et la congélation sont des techniques fréquemment employées pour étendre la durée de stabilité de ces préparations bien spécifiques [65, 80].

II.4.4 Etude de stabilité des produits issus des biotechnologies

Les études de stabilité des produits issus des biotechnologies doivent permettre d'explorer ces nombreuses voies de dégradation, en particulier l'agrégation. Pour cela, une seule méthode ne suffit pas comme pour le cas des molécules classiques et l'emploi de méthodes dites orthogonales s'avèrent indispensable.

Voici les principales méthodes employées. Nous ne rappellerons pas les détails de leur principe dans ce mémoire.

II.4.4.1 Méthodes évaluant la stabilité physique

Un simple examen visuel peut permettre de détecter un changement de couleur, l'apparition d'une trouble ou d'un précipité. Mais encore plus que pour les médicaments classiques, cet examen ne suffit pas et des examens subvisuels doivent être développés.

- Turbidimétrie

La turbidimétrie détecte facilement la formation de microagrégats

- Diffusion dynamique de la lumière (*Dynamic Light Scattering* : DLS)

Elle permet l'évaluation des agrégats solubles et insolubles. La taille des particules analysées par la DLS s'échelonnent de 1 à 10000 nm [64].

- Chromatographie d’exclusion sur gel (*size-exclusion chromatography* : SEC)

Son objectif est de mesurer les niveaux de monomères et d’agrégats polymériques solubles présents dans le surnageant.

- L’étude de l’évolution de l’agrégation en fonction de la température.

L’agrégation dépendant essentiellement de la température, les échantillons sont soumis à des températures croissantes pour déterminer la température à partir de laquelle l’agrégation se produit.

II.4.4.2 Méthodes évaluant la stabilité chimique

Les méthodes fréquemment utilisées pour évaluer la stabilité chimique sont :

- La chromatographie ionique ou chromatographie par échange d’ions. Il s’agit la plupart du temps de chromatographie par échange de cations (*Cation Exchange Chromatography* : CEX).
- La cartographie peptidique (*peptide mapping*)
- La SEC peut également être considérée comme une méthode évaluant la stabilité chimique car elle révèle d’éventuelles cassures dans la chaîne peptidique [28].
- L’électrophorèse capillaire
- Spectroscopie UV et spectre dérivé seconde :

Elle détecte des changements très légers dans la structure tertiaire, détermine la concentration en protéine non agrégée et estime l’intégrité de l’anticorps.

- Spectroscopie IR et spectre dérivé seconde

Elle évalue les changements dans la structure secondaire.

II.4.4.3 Activité biologique

Comme nous l’avons vu précédemment, l’activité biologique d’une protéine dépend de sa structure tridimensionnelle et doit évidemment être étudiée pour garantir l’efficacité de l’anticorps monoclonal. Les techniques employées sont multiples et dépendent de l’action attendue de l’anticorps. On peut par exemple réaliser une méthode ELISA [28, 81-82] ou tester l’action sur des cultures cellulaires. Ainsi Astier *et al.* ont testé l’activité biologique de préparation de Rituximab sur des cellules surexprimant le CD20 [83].

II.4.4.4 Recommandations de la conférence de consensus européenne

Devant le nombre très important de techniques disponibles pour explorer les voies de dégradation des protéines et l'absence de consignes précises dans l'ICH Q5C, la conférence de consensus européenne recommande :

- Au minimum la turbidimétrie et la SEC pour la stabilité physique
- Au minimum 3 méthodes séparatives comme la CEX, la SEC et le peptide-mapping pour la stabilité chimique. Toutefois, l'emploi de technique complémentaire ou alternative comme l'électrophorèse capillaire ou la SM reste possible.
- L'étude de l'activité biologique

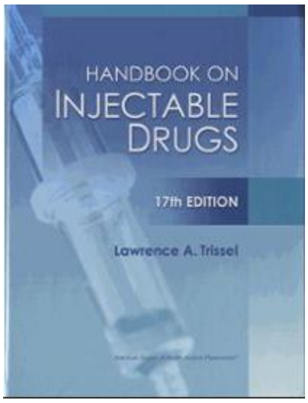
La conférence de consensus rappelle que la réalisation d'un ou plusieurs tests biologiques est essentielle et complémentaire d'une batterie d'analyses physicochimiques, mais ne doit pas être considérée seule comme une SIAM [28].

III Les différentes bases de données disponibles

Lorsqu'un pharmacien hospitalier ne dispose pas de matériel, de temps, de locaux adaptés, d'expérience ou du recul nécessaire à la conduite d'une étude de stabilité, il peut être amené à consulter les travaux menés par d'autres équipes. Les publications relatives à la stabilité des médicaments sont répertoriées dans trois principales bases de données.

III.1 Trissel Handbook on Injectable Drugs

Le *Trissel Handbook on Injectable Drugs* est le premier ouvrage d'une telle envergure à être paru. La première version est parue il y a déjà 35 ans et la 17ème édition est actuellement disponible.



Elle contient 1280 pages, soit 332 monographies et 2830 liens vers des études de stabilité, de compatibilité et des références relatives aux conditions de stockage et de préparations des médicaments et est à ce jour une référence dans le domaine.

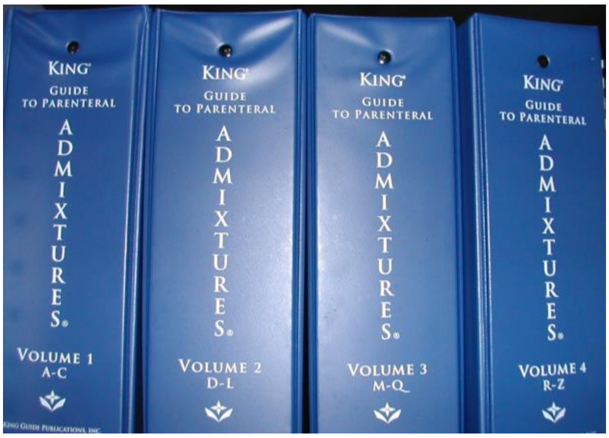
Une version réalisée en partenariat avec *l'American Society of Health-System Pharmacists* est maintenant disponible en ligne : *ASHP'S Interactive Handbook on Injectable Drugs.*

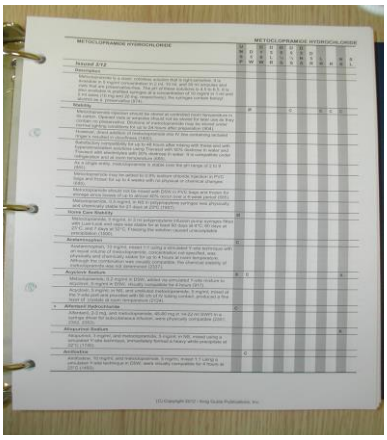
III.2 Stabilis®

"*Stabilis® : stabilité et compatibilité des médicaments injectables*" est une base de données européenne disponible sur le site www.stabilis.org depuis février 2008. Elle comprend au 1er septembre 2013 : 3442 références pour 633 monographies, dont 410 médicaments injectables comprenant 79 anticancéreux. Cette base sera décrite plus en détail dans le paragraphe IV.

III.3 King Guide to parenteral admixtures

Le King Guide to parenteral admixtures est disponible sous plusieurs formes : CDROM, version internet en ligne et version papier constituée d'un ensemble de 4 classeurs.





Chaque page contient une monographie comprenant les différentes données de stabilité connues.

III.4 Avantages et inconvénients des principales bases de données

Les avantages et inconvénients des trois principales bases de données sont présentés dans le tableau VII.

Tableau VII : Avantages et inconvénients des principales bases de données répertoriant les études de stabilité

Base de données	Avantages	Inconvénients
Trissel Handbook on Injectable Drugs **(17ème version)**	– 2830 références – 332 monographies – Ouvrage de référence	– version en ligne coûteuse – pas de cotation des publications retenues
Stabilis **(au 1er septembre 2013)**	– 3442 références pour 633 monographies – Accessible (site internet gratuit, disponible en 26 langues) – Mise à jour en continu – Différentes fonctions de recherche – Références toujours citées – Toutes les voies d'administration (pas seulement injectable)	– Pas de cotation des publications retenues
King Guide to parenteral admixtures	– 2407 références – Plus de 500 monographies	– Manque de convivialité – Voie injectable uniquement – Version en ligne coûteuse – Pas de cotation

III.5 Autres bases

D'autres bases de données relatives à la stabilité des médicaments existent, comme par exemple la base intitulée « Stabilité des médicaments injectables en perfusion » conçue par J.-D. Hecq. Celle-ci se présente sous le même type de format que le King Guide.

Le laboratoire Baxter présente sa propre base de données de stabilité intitulée Stabforum®.

IV La base de données Stabilis ®

IV.1 Historique et présentation de la base de données Stabilis®

La base de données Stabilis ® est le fruit d'un travail d'équipe important. Le projet originel intitulé PA 2000 est né en 1997 d'une idée du Docteur Jean VIGNERON, pharmacien hospitalier à l'Hôpital Brabois Adultes du CHU de Nancy, dont l'objectif était de fournir un guide clair et convivial sur la stabilité des médicaments injectables, qui puisse être consulté sans la barrière du langage [84]. Cette idée fut inspirée par l'Encyclopédie du jeu d'échecs qui présente les parties d'échecs des joueurs les plus célèbres dans un langage universel, basé sur des pictogrammes. Ce projet fit l'objet du mémoire de fin d'internat du Docteur Isabelle GINDRE, pharmacien hospitalier au CH de Toul, en octobre 2000. Après un long travail commencé en 1997, de recherche bibliographique dans différentes bases de données, de lecture, d'analyse critique des articles et de saisie dans la base de données (cf. Annexe 1), il fut diffusé pour la première fois en 2001 sous forme de CDROM, par l'association Infostab®. Le but de cette association à but non lucratif est la promotion de la bonne utilisation des médicaments injectables en milieu hospitalier (préparation, administration, stabilité, compatibilité). Une deuxième puis une troisième version ont vu le jour en 2003 puis en 2006.

En février 2008, le support de cette base de données européenne a évolué et sa quatrième version est maintenant disponible sur le site www.stabilis.org dont la page d'accueil (figure 9) donne un bref aperçu à l'utilisateur des informations récentes.



Figure 9 : Page d'accueil du site de la base de données Stabilis®

Tout type de recherche peut être effectué :

- Une recherche par molécule ou par classe pharmacologique (figure 10)
- Une recherche d'incompatibilité en entrant directement les molécules faisant l'intérêt de la recherche (figure 11)
- Une recherche par auteurs (figure 12)

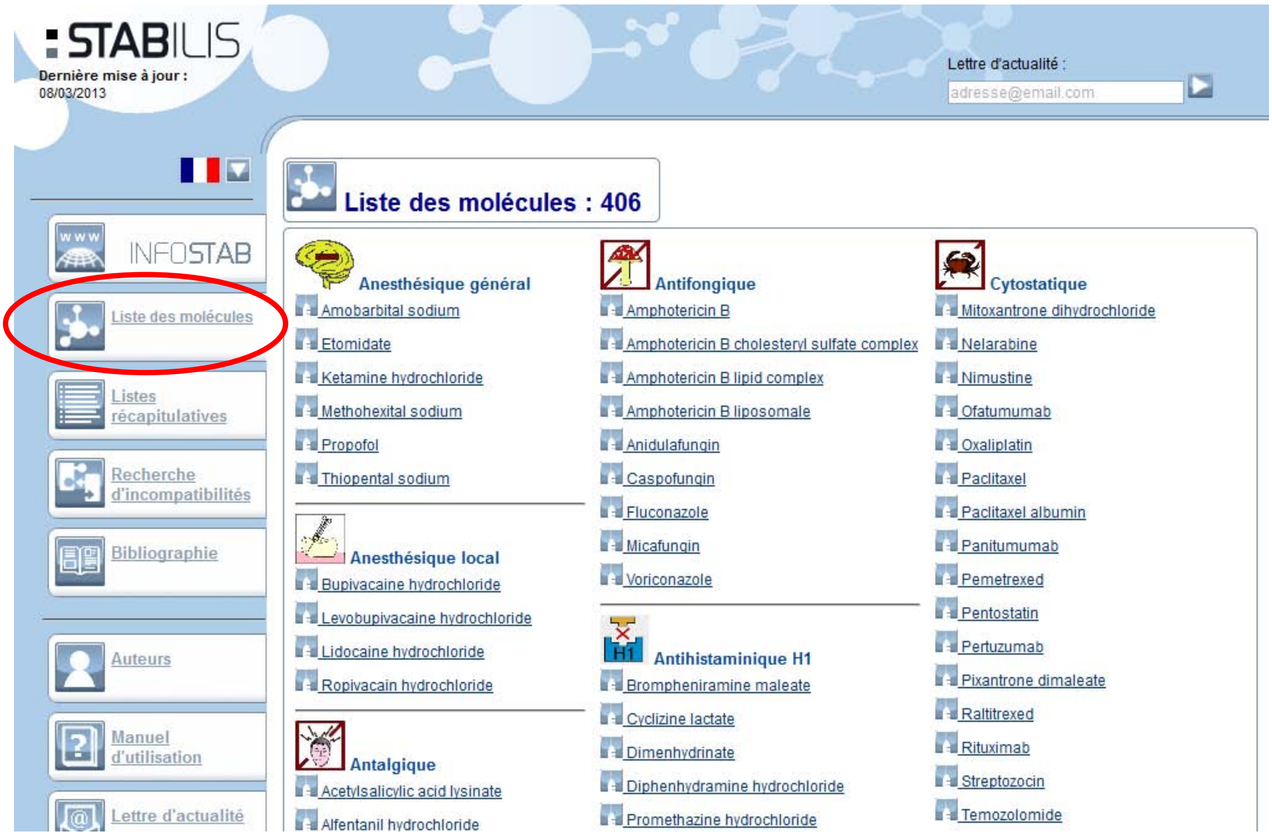


Figure 10 : Recherche par molécules sur Stabilis®

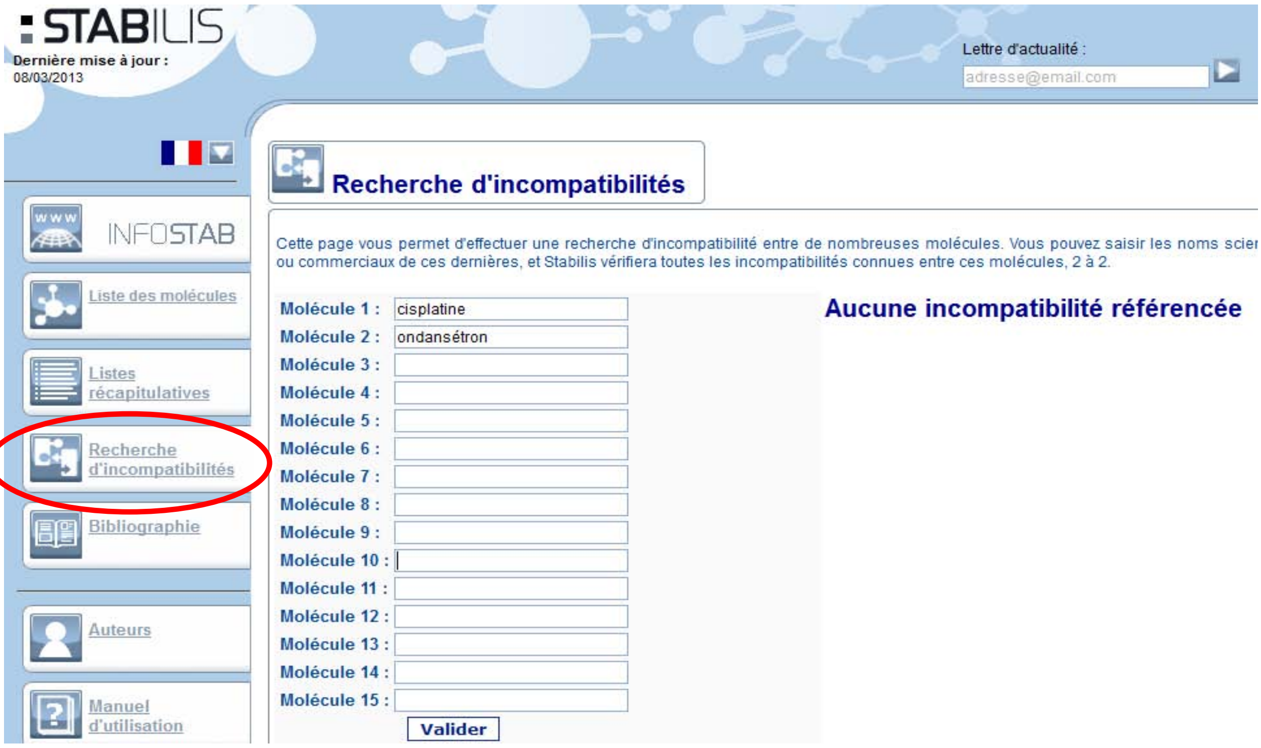


Figure 11 : Recherche d'incompatibilités sur Stabilis®

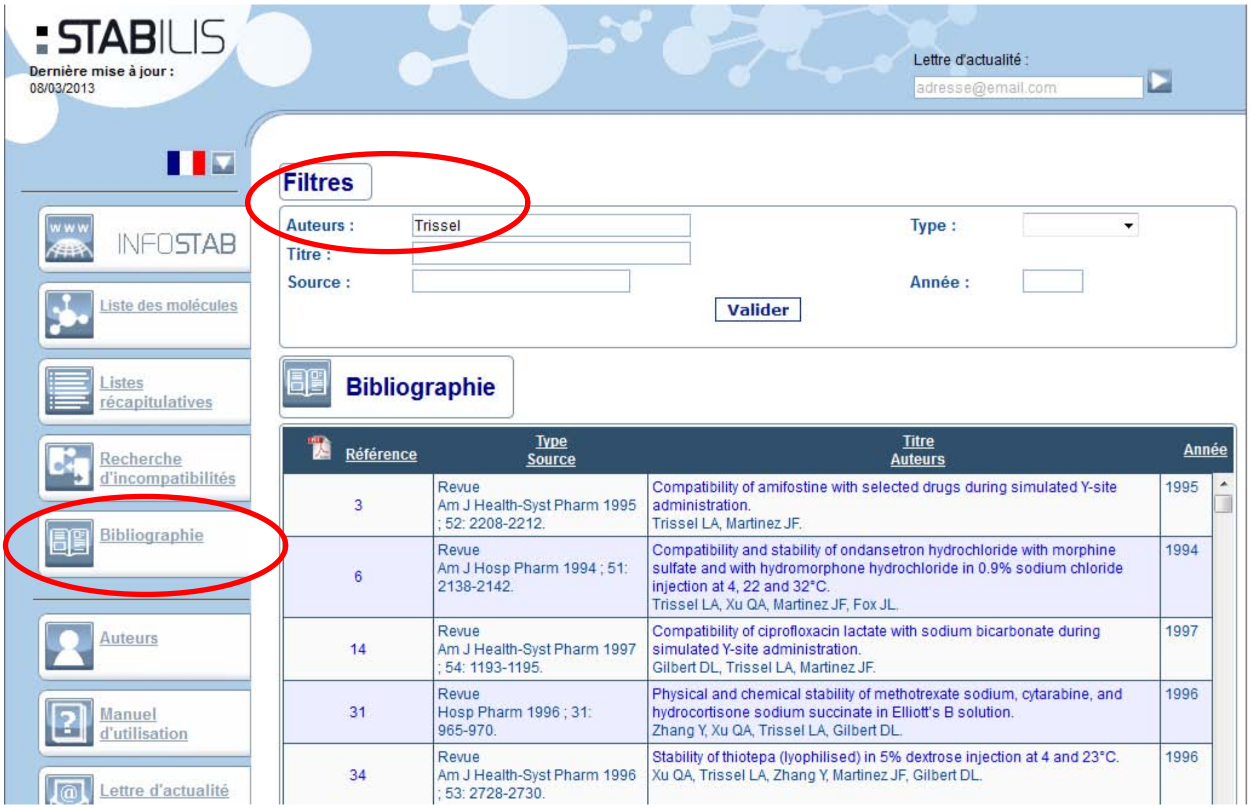


Figure 12 : Recherche par auteurs sur Stabilis®

Selon les renseignements recherchés, plusieurs outils de recherche rapide sont donc à disposition, et un manuel d'utilisation pour naviguer au mieux sur le site est également accessible.

Les statistiques de fréquentation de la base de données Stabilis® sont présentées sur la figure 13. En 2012, nous dénombrons un total de 130704 visites à la recherche d'informations sur la stabilité ou la compatibilité des médicaments injectables, ce qui révèle l'importance de disposer de ce type de données. Nous voyons que le nombre de connexions par an n'a cessé d'augmenter depuis sa création. Si l'on extrapole les données de l'année 2013 non achevée, le nombre de visites devrait atteindre environ 150000 connexions.

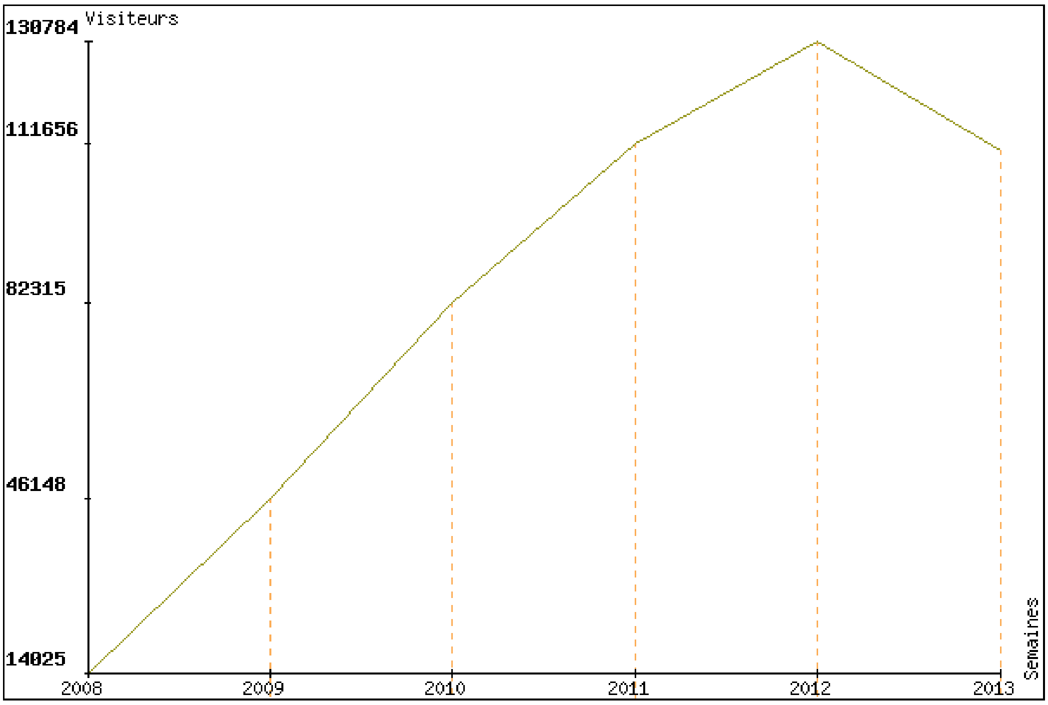


Figure 13 : Fréquentation du site Stabilis® depuis sa création en 2008 (aperçu au 1er septembre 2013)

Parmi toutes ces connexions, la grande majorité (87,1%) correspond à une recherche par monographie, c'est-à-dire par molécule (tableau VIII).

Tableau VIII : Nombre de visiteurs par section sur le site Stabilis® (aperçu au 1er septembre 2013)

Section	Nombre de visiteurs	Pourcentage
Monographies	311391	87.1 %
Bibliographie	108857	30.4 %
Recherche d'incompatibilités	39252	11.0 %
Listes récapitulatives	28594	8.0 %
Auteurs	11506	3.2 %

Des recherches ont lieu pour toutes les classes pharmacologiques mais les médicaments anticancéreux représentent la classe la plus consultée, avec 14 anticancéreux parmi les 20 premières molécules (tableau IX).

Tableau IX : les 20 molécules les plus consultées sur Stabilis® (aperçu au 1er septembre 2013)

Section	1	Pourcentage
Vancomycin hydrochloride	3684	2.1 %
Ceftazidime	3304	1.9 %
Bortezomib	3201	1.8 %
Cyclophosphamide	3102	1.8 %
Cisplatin	3084	1.8 %
Furosemide	2919	1.7 %
Rituximab	2865	1.6 %
Fluorouracil	2833	1.6 %
Bevacizumab	2762	1.6 %
Midazolam hydrochloride	2734	1.6 %
Etoposide	2685	1.5 %
Carboplatin	2664	1.5 %
Cytarabine	2592	1.5 %
Methotrexate sodium	2507	1.4 %
Meropenem	2418	1.4 %
Morphine hydrochloride	2410	1.4 %
Doxorubicin hydrochloride	2377	1.4 %
Trastuzumab	2368	1.4 %
Docetaxel	2335	1.3 %
Bendamustine hydrochloride	2273	1.3 %

Au total au 1er septembre 2013, 3442 références pour 633 monographies, dont 410 médicaments injectables et 79 anticancéreux constituent la base de données Stabilis ®. Les informations sont disponibles en 26 langues.

IV.2 Exemple de la monographie du cisplatine

Pour présenter les différentes informations que l'on peut trouver sur le site www.stabilis.org, voici l'exemple de la monographie du cisplatine, une molécule anticancéreuse très utilisée, seule ou en association à d'autres médicaments.

La figure 14 représente un aperçu de la monographie du cisplatine.

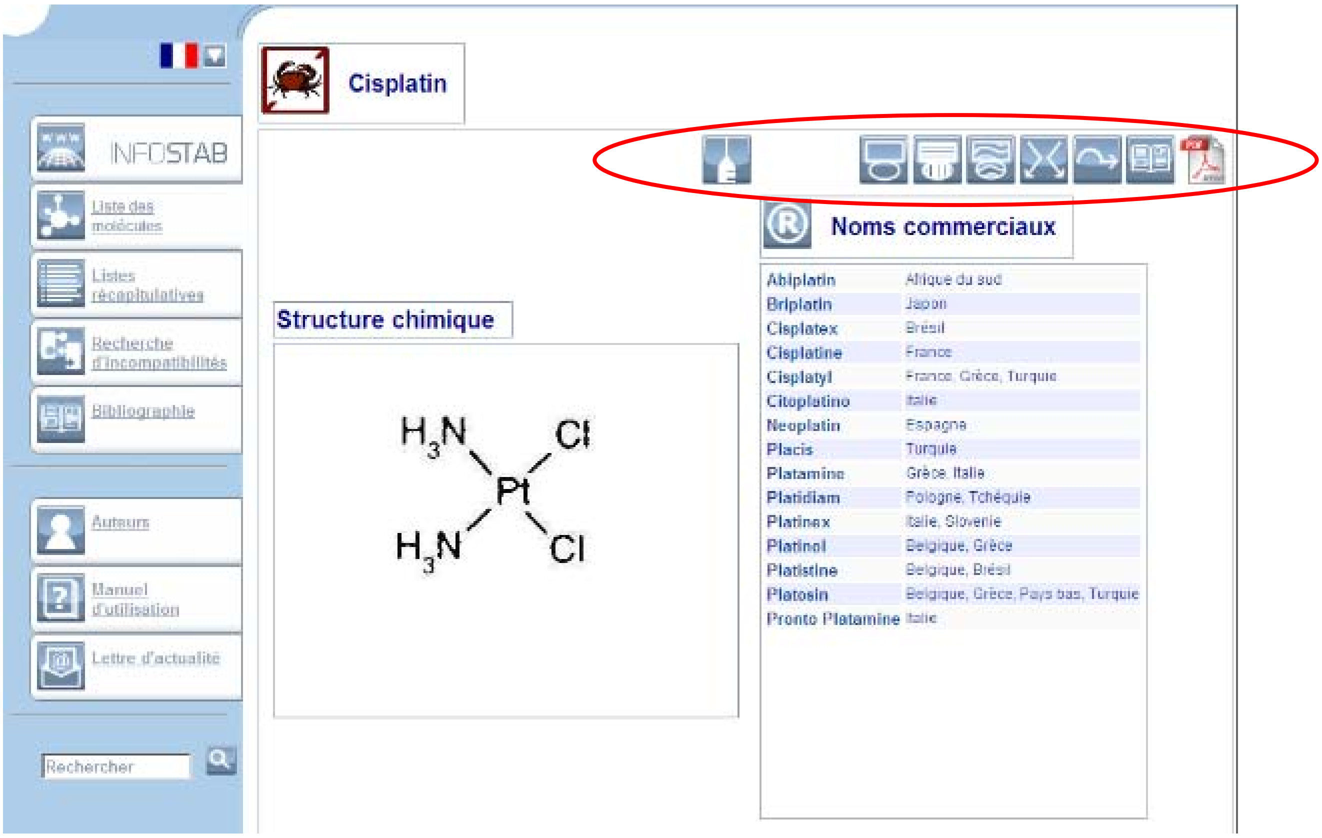
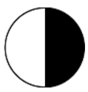
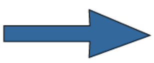


Figure 14 : Monographie du cisplatine sur Stabilis®

La page d'accueil de chaque monographie est présentée de la même façon pour toutes les molécules, nous y trouvons la structure chimique et les noms commerciaux de la molécule dans les différents pays.

De façon générale, pour limiter le recours aux traducteurs, gagner en lisibilité tout en permettant un langage universel, la plupart des informations disponibles sur Stabilis ® sont présentées sous forme de pictogrammes (entourés en rouge sur la figure 14) compréhensibles quelle que soit la langue du lecteur. La signification des principaux pictogrammes se trouve dans le tableau X.

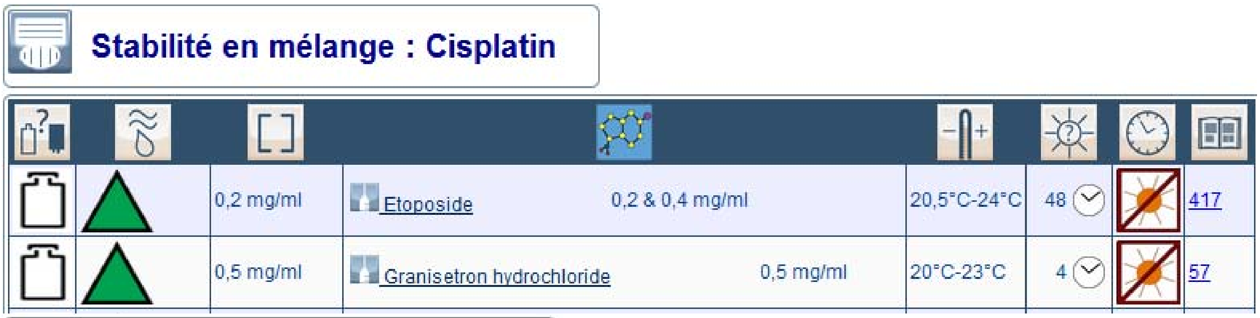
Tableau X : Traduction des principaux pictogrammes d'une monographie Stabilis ®

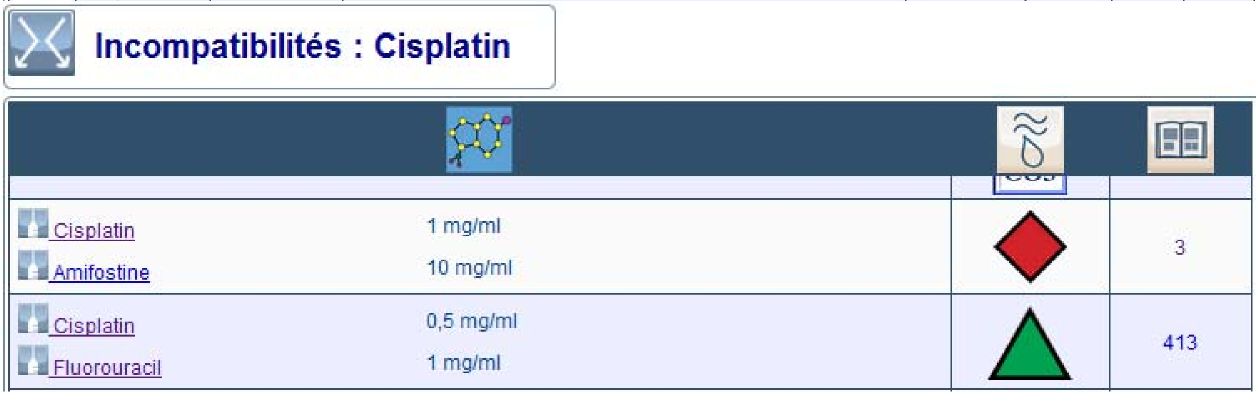
Pictogrammes	Traductions	Pictogrammes	Traductions
	cytostatique (=anticancéreux)		Contenant
	injectable		Verre
	Stabilité des solutions		Polyvinyle chlorure
	Stabilité en mélange		Polyproylène
	Facteurs influençant la stabilité		Polyéthylène
	Incompatibilités		Ethylène vinyle acétate
	Voie d’administration		Elastomère
	Bibliographie		Température
	Solvant		Conservation
	NaCl 0,9%		Abri de la lumière
	G5%		Durée
	Eau pour préparation injectable		Jours (le nombre à côté correspond au nombre de jours)
	Bibliographie		Heures
	Provoque		Concentration

Pour le cisplatine, voici des exemples des données de stabilité disponibles sur Stabilis® :

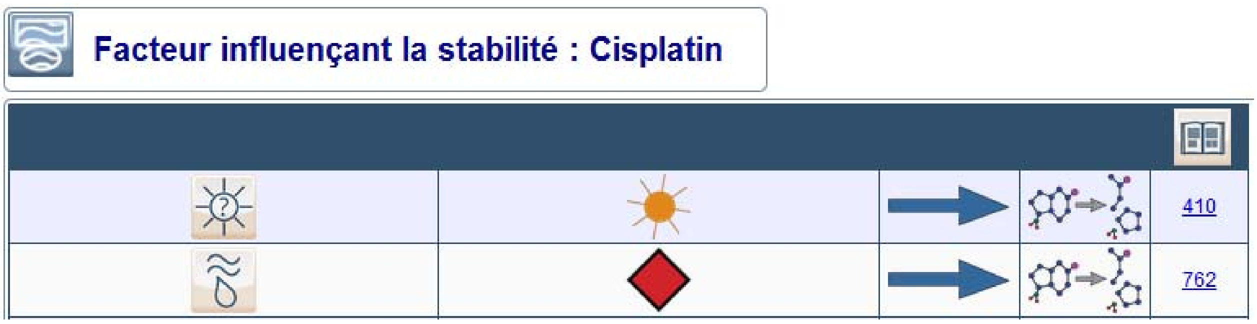


Les préparations de cisplatine en flacons de verre, dans du NaCl 0,9%, à une concentration de 0,166 mg/mL sont stables 14 jours à 30°C et à l'abri de la lumière. La référence 147 correspond à l'étude de stabilité ayant révélé cette information et l'utilisateur peut accéder directement aux données de cette référence en cliquant sur son lien (flèche rouge ci-dessus)





Le cisplatine peut être mélangé à l'étoposide et au granisétron, mais pas au 5-fluorouracile.



La dilution dans du G5% ou la conservation à la lumière provoque une dégradation.

IV.3 Organisation : sélection des articles

Les articles sélectionnés pour alimenter la base de données sont recherchés par Mr Jean VIGNERON, rédacteur en chef de Stabilis®. Pour cela, une fois par mois, les revues dans lesquelles paraissent des études de stabilité sont analysées afin d'y chercher de nouveaux articles. La base est donc mise à jour en continu. Une recherche par mots clés (stabilité, compatibilité, dégradation en français et en anglais…) peut également être effectuée sur les sites de référencements des publications scientifiques comme Scopus®. Il arrive parfois que lors de la lecture de la bibliographie d'un nouvel article, une étude de stabilité publiée soit citée et n'ait pas été relevée. Elle est alors recherchée et ceci constitue une troisième méthode de sélection des articles.

Les articles sélectionnés sont saisis sur le site www.stabilis.org et un numéro de référence leur est attribué, par ordre croissant.

Les articles refusés sont conservés, un numéro leur est attribué également, et ils sont saisis en « refusé » dans Stabilis ®. Ils sont alors visibles uniquement par les auteurs et non par les utilisateurs. Le but est d'éviter de relire à nouveau un article déjà refusé.

2ème partie : Évolution de la base Stabilis®

De très nombreuses données de stabilité sont répertoriées dans Stabilis® et mises à disposition sur le site www.stabilis.org

Actuellement, les publications sont présentées avec le nom de l'équipe ayant réalisé l'étude, accompagné du nom de la revue scientifique dans laquelle elles sont parues. Toutefois, aucune information relative à la rigueur et la qualité de la méthode employée n'est mentionnée, ce qui constitue une limite pour un lecteur non averti.

L'objectif principal de notre travail est de créer un système d'évaluation et de cotation des articles alimentant la base de données Stabilis® et portant sur la stabilité des médicaments anticancéreux injectables. Pour cela nous avons élaboré une grille d'évaluation selon des critères que nous avons prédéfinis puis nous avons analysé et coté tous ces articles. Ensuite, nous avons créé les écrans de saisie de ces informations et les écrans de visualisation pour les utilisateurs. L'objectif secondaire est l'élaboration d'une base de données complémentaire des équipes de recherche impliquées dans le domaine de la stabilité en Europe.

I Matériels et Méthode

I.1 1ère phase : travail bibliographique et recommandations

Comme pour la plupart des travaux scientifiques, la première phase du travail correspondait à un travail bibliographique au cours duquel de nombreuses publications ont été recherchées, en particulier sur le développement et la validation d'une méthode analytique rigoureuse [28-34, 36, 46, 50, 61, 85]. D'autre part, nous avons relu les ICH guidelines [6, 39-40, 43], les recommandations établies par la conférence de consensus européenne à l'initiative de la SFPO [23, 28, 86] ainsi que le guide méthodologique des études de stabilité [46] afin de fonder notre travail sur les recommandations en vigueur et les connaissances actuelles.

I.2 2ème phase : travail en groupe

I.2.1 Première séance : construction du formulaire d'évaluation et de la grille de cotation

La deuxième phase de notre travail s'est déroulée en groupe. Celui-ci était composé de :

- Dr J. VIGNERON, pharmacien hospitalier au CHU de Nancy, rédacteur en chef et fondateur de la base de données Stabilis ®
- Dr B. DEMORE, MCU-PH en pharmacie clinique au CHU de Nancy, collaboratrice pour le projet Stabilis®
- P. LIDER, interne en Pharmacie

Le but des premières réunions de ce groupe de travail a été la réflexion sur la création de notre système de cotation et sur la sélection des critères qui devraient le composer.

I.2.1.1 Cas des molécules « classiques »

Nous avons choisi plusieurs publications relatives à une étude de stabilité d'un médicament anticancéreux, au hasard parmi toutes celles figurant dans la base de données Stabilis ® [4, 17, 21, 87-89]. Grâce à ces premières publications, nous avons listé les différents cas de figure rencontrés constituant le formulaire d'évaluation (cf. Annexe 2).

La partie « matériel et méthode » des publications à analyser peut être décrite avec ces critères :

- La stabilité physique : contrôle visuel et subvisuel (par turbidimétrie, microscopie ou comptage particulaire)
- La stabilité chimique
    - méthode utilisée : CLHP, CCM, CCM à haute performance, autre
    - mode de détection : UV, DAD, Masse, Fluorimétrie, Électrochimie, autre
    - utilisation ou non d'un étalon interne
    - validation de la méthode (linéarité avec un coefficient de corrélation R^2 satisfaisant, précision avec un CV intra-série < 2% et un CV inter-série < 4%, capacité indicatrice de stabilité)
- Les autres méthodes : pH, osmolalité, activité biologique, recherche de contaminant comme le Di(2-éthylhexyl)phtalate (DEHP)

Pour la partie « résultats », les critères sont les suivants :

- Stabilité physique : résultats observés en visuel et/ou subvisuel

- Stabilité chimique :
  - Stabilité établie avec 90 ou 95% de la concentration initiale
  - Variabilité des résultats (CV<5%)
  - Cohérence globale
  - Description ou non des PD
- Autres méthodes : résultats obtenus (variation de pH, activité biologique…)
- Commentaires standardisés

Il s'agit de commentaires saisis dans Stabilis®, ayant pour vocation de justifier la cotation pour les cas critiques, ou pour apporter un complément d'information sur des éléments n'influant pas la cotation. Lorsque l'administrateur effectuant la cotation d'un article rencontre un point spécifique (positif ou négatif) ne figurant pas dans le formulaire d'évaluation, il crée un nouveau commentaire. L'annexe 2 correspond au formulaire initial utilisé pour la cotation et ne contient donc pas encore la totalité des commentaires possibles. Ceux-ci seront ajoutés au fur et à mesure de notre travail.

Nous avons ensuite confronté ce formulaire d'évaluation aux recommandations, notamment celles des ICH et de la conférence de consensus européenne pour construire une première version de notre grille de cotation (cf. Annexe 3), comprenant 5 niveaux de preuve de A à E, où A représente le plus haut niveau de fiabilité et E le plus bas.

I.2.1.2 Cas des protéines

Comme nous l'avons vu, le cas des protéines est totalement différent des molécules dites « classiques ». Les méthodes employées pour déterminer la stabilité des molécules classiques ne suffisent pas, les critères à retenir pour la cotation doivent être spécifiques. Nous avons donc créé un formulaire d'évaluation (cf. Annexe 4) spécifique aux protéines. En accord avec l'ICH Q5C [43] et les recommandations de la conférence de consensus européenne [28], nous avons établi une liste des méthodes qui peuvent être utilisées.

Il s'agit, pour la stabilité physique, de la turbidité ou turbidimétrie, la chromatographie d'exclusion sur gel (SEC), la diffusion dynamique de la lumière (DLS) et l'étude de l'évolution de l'agrégation en fonction de la température.

Pour la stabilité chimique, ce sont la cartographie peptidique, la spectrophotométrie UV et son spectre en dérivé seconde, la spectrophotométrie IR et son spectre en dérivé seconde, la chromatographie par échange d'ions, essentiellement de cations (CEX) et l'électrophorèse capillaire.

L'activité biologique peut être étudiée par de multiples méthodes comme par exemple la technique ELISA, ou les cultures cellulaires.

La grille de cotation (cf. Annexe 5) a ensuite été construite sur le même modèle que pour les molécules « classiques », c'est-à-dire avec 5 niveaux de preuve. La cotation est établie en fonction du nombre et de la qualité des techniques employées.

I.2.2 Deuxième séance : Test, évolution et validation du formulaire

Afin de tester nos formulaires d'évaluation et grilles de cotation en pratique, nous les avons appliqués à 20 articles pris au hasard. Ceci nous a permis de détecter certaines difficultés ainsi que les cas particuliers non rencontrés lors de la première séance. Les formulaires d'évaluation n'ont pas nécessité de modifications.

Les grilles de cotation ont été modifiées de façon relativement importante. Nous avons tout d'abord créé des niveaux secondaires A+, B+ et C+ pour distinguer les situations où un examen subvisuel était réalisé, ce qui représente une amélioration par rapport aux simples examens visuels. Ensuite, la grille que nous avions établie pour les molécules classiques s'est avérée trop peu détaillée. Nous avons décrit ce que nous entendions par « une méthode analytique discutable ». Nous avons dû également ajouter un certain nombre de situations non envisagées pour la première version : par exemple le cas d'une étude où la stabilité est établie avec 90% de la concentration initiale mais où l'aspect subvisuel est étudié a été ajouté et coté B+, ou encore les études utilisant une autre méthode que la CLHP. La variation de pH et la détection de PD ont été retirées de la grille de cotation car elles faisaient déjà partie des commentaires libres. Au contraire, la grille de cotation pour le cas des protéines semblait trop exigeante par rapport aux recommandations de la conférence de consensus européenne puisque la totalité des méthodes ne doit pas forcément être employée, nous l'avons donc corrigée.

I.2.3 Troisième séance : Recherche d'une différence selon le lecteur et validation de « ma formation »

Le but de la troisième séance de travail en groupe était ensuite de vérifier que la note attribuée à une publication ne variait pas en fonction de l'évaluateur. Pour cela, les grilles corrigées ont été utilisées sur 30 nouveaux articles pris au hasard, que les trois examinateurs ont évalués et cotés individuellement. Suite à cette étape, des modifications ont été apportées et les grilles ont été définitivement validées (cf. Annexes 6 et 7). Le tableau XI montre les différentes « notes » ou « niveau de preuve » attribués pour 15 de ces articles. Nous voyons que les notes ne diffèrent que dans de rares cas, pour lesquels nous sommes tombés d'accord après discussion. Les différences

initiales venaient d'une mauvaise interprétation de la grille de cotation. De plus, ce test a permis de vérifier ma capacité à coter individuellement les articles pour la suite de ce travail. Dorénavant, seuls les articles me posant problème seront validés en duo.

Tableau XI : cotation simultanée par les 3 membres du groupe de travail

N° référence	PL	BD	JV	Note finale
1021	C	C	C	C
482	A	B	A	A
504	A	A	A	A
841	?	C	a exclure	a exclure
844	A pour molécule 1 B pour molécule 2	A pour molécule 1 B pour molécule 2	B	Joker
53	C	C	C	C
413	?	?	a exclure	a exclure
643	D	D	D	D
740	C	D	B	C
32	A+	A+	A+	A+
859	C	C	C	C
632	B ou D	D	B	D
417	D	D	D	D
408	C	C	C	C
164	C	C	C	C

I.2.4 Traduction informatique

Afin de fournir aux utilisateurs de Stabilis® un maximum de renseignements, nous souhaitions que la note finale, mais également tous les détails ayant permis d'attribuer cette note figurent sur le site internet de la base de données, si possible sous forme de pictogrammes créés spécialement pour ce travail.

Dans la partie uniquement visualisable par les auteurs et collaborateurs de Stabilis® se trouve la rubrique « dictionnaire » contenant de nombreux items dont :

- les cotations envisageables
- les méthodes validant la stabilité physique
- les méthodes validant la stabilité chimique
- les autres méthodes
- une rubrique commentaires

Dans ces rubriques, nous avons saisi toutes les techniques rencontrées dans les articles, correspondant aux éléments du formulaire d'évaluation.

I.2.4.1 Cotations

Dans la rubrique « cotations » de l'onglet « dictionnaire », nous avons saisi toutes les notes pouvant être attribuées à un article. Un aperçu de l'écran se trouve en figure 15. Nous y voyons les notes ainsi que le pictogramme correspondant.

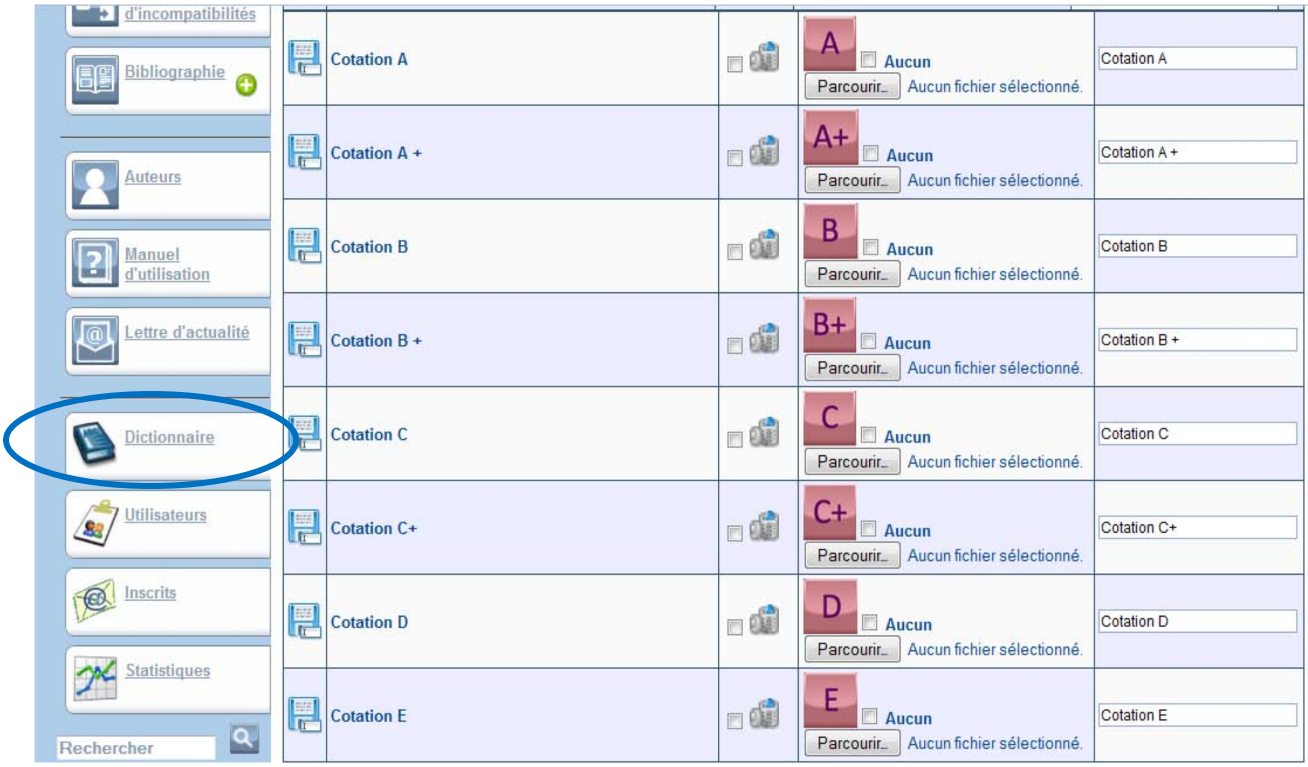


Figure 15 : Aperçu des différents niveaux de preuve attribuables pour une publication

Les cas particuliers « joker », « laboratoire » et « non applicable » expliqués plus loin (2ème partie, paragraphe I.3.2.2) ont également été saisis dans cette rubrique.

I.2.4.2 La stabilité physique

Toutes les méthodes précédemment citées et évaluant la stabilité physique sont saisies dans l'onglet « dictionnaire » puis la rubrique « stabilité physique » (cf. figure 16).

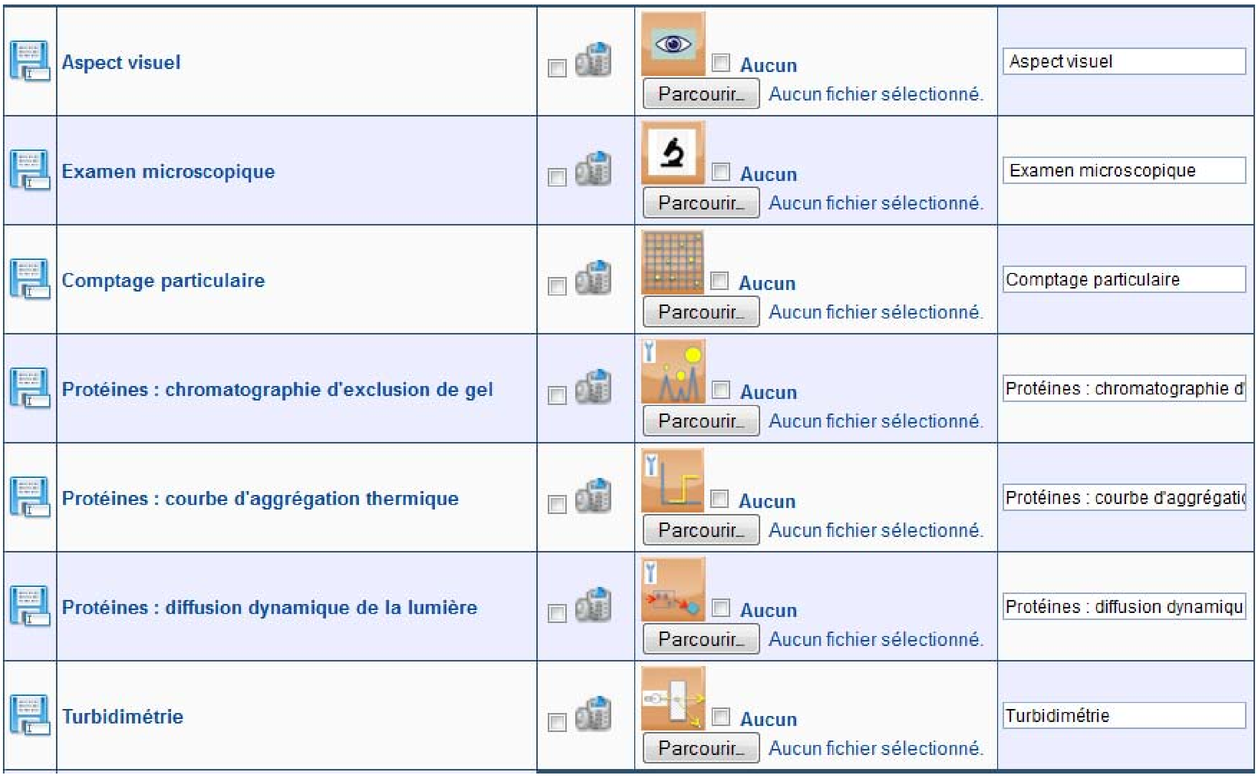
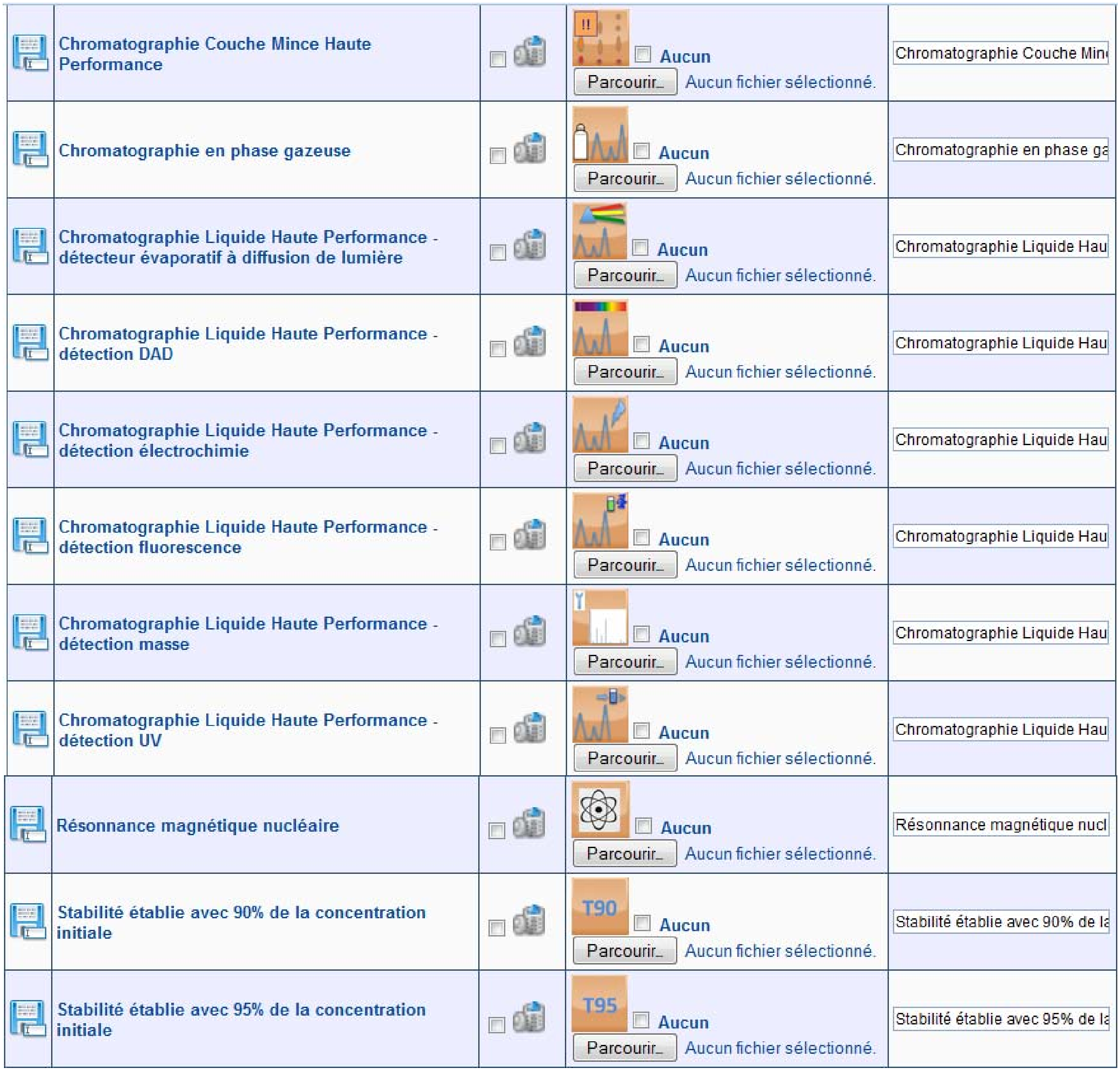


Figure 16 : Aperçu des méthodes explorant la stabilité physique

I.2.4.3 La stabilité chimique

Toutes les méthodes précédemment citées et évaluant la stabilité chimique sont saisies dans l'onglet « dictionnaire » puis la rubrique « stabilité chimique ».

On y trouve les méthodes pour les molécules classiques (cf. figure 17) et pour les protéines (cf. figure 18).



	Chromatographie Couche Mince Haute Performance		Aucun Parcourir... Aucun fichier sélectionné.	Chromatographie Couche Min
	Chromatographie en phase gazeuse		Aucun Parcourir... Aucun fichier sélectionné.	Chromatographie en phase ga
	Chromatographie Liquide Haute Performance - détecteur évaporatif à diffusion de lumière		Aucun Parcourir... Aucun fichier sélectionné.	Chromatographie Liquide Hau
	Chromatographie Liquide Haute Performance - détection DAD		Aucun Parcourir... Aucun fichier sélectionné.	Chromatographie Liquide Hau
	Chromatographie Liquide Haute Performance - détection électrochimie		Aucun Parcourir... Aucun fichier sélectionné.	Chromatographie Liquide Hau
	Chromatographie Liquide Haute Performance - détection fluorescence		Aucun Parcourir... Aucun fichier sélectionné.	Chromatographie Liquide Hau
	Chromatographie Liquide Haute Performance - détection masse		Aucun Parcourir... Aucun fichier sélectionné.	Chromatographie Liquide Hau
	Chromatographie Liquide Haute Performance - détection UV		Aucun Parcourir... Aucun fichier sélectionné.	Chromatographie Liquide Hau
	Résonnance magnétique nucléaire		Aucun Parcourir... Aucun fichier sélectionné.	Résonnance magnétique nucl
	Stabilité établie avec 90% de la concentration initiale		T90 Aucun Parcourir... Aucun fichier sélectionné.	Stabilité établie avec 90% de la
	Stabilité établie avec 95% de la concentration initiale		T95 Aucun Parcourir... Aucun fichier sélectionné.	Stabilité établie avec 95% de la

Figure 17 : Aperçu des méthodes explorant la stabilité chimique pour les molécules "classiques"



Figure 18 : Aperçu des méthodes explorant la stabilité chimique pour les protéines

I.2.4.4 Les autres méthodes

Les autres méthodes occasionnellement mises en œuvre sont saisies dans l'onglet « dictionnaire » puis la rubrique « autres méthodes » (cf. figure 19).

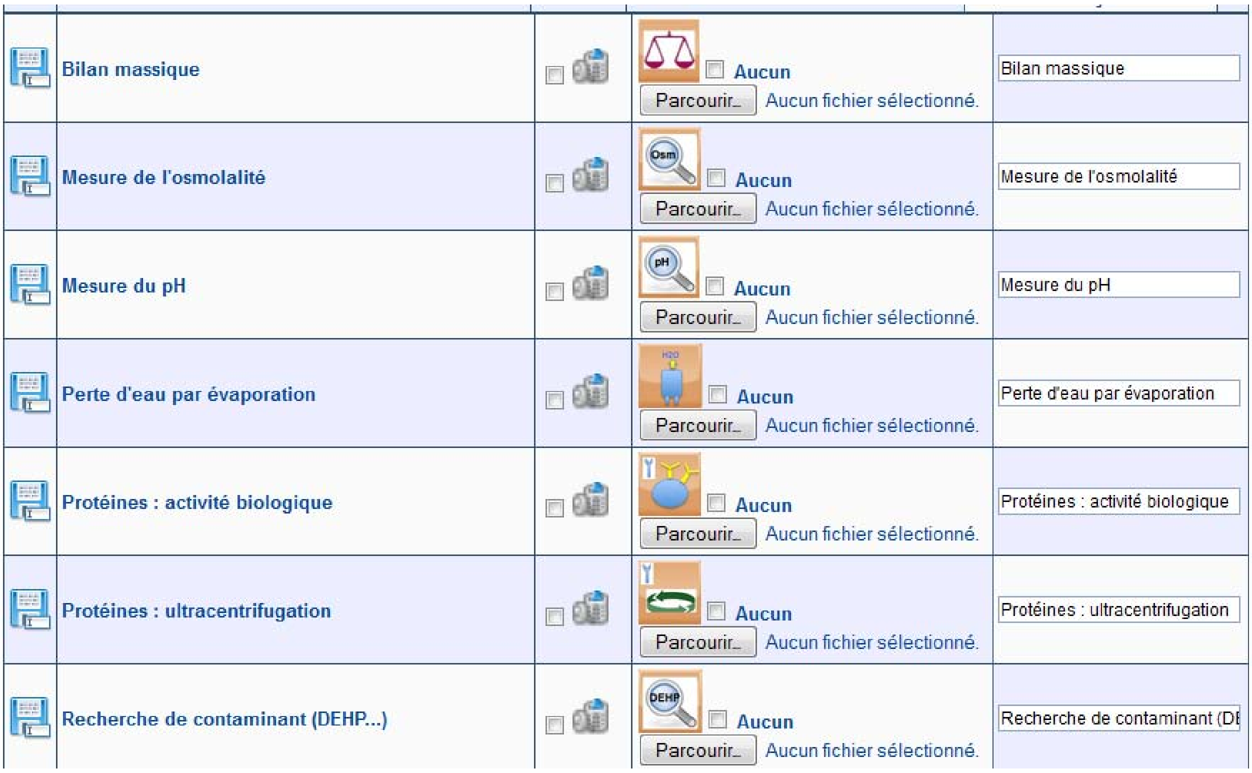


Figure 19 : Aperçu des autres méthodes éventuellement employées dans les études de stabilité

I.2.4.5 Commentaires

La rubrique commentaire est plus détaillée. Elle permet de fournir les informations justifiant la note finale par exemple en précisant que les résultats présentaient d'importantes variations, que les PD n'étaient pas commentés ou encore que la capacité indicatrice de stabilité de la technique analytique mise en œuvre n'était pas suffisamment étudiée. Il s'agit donc des commentaires standardisés des formulaires d'évaluations. Ces renseignements sont la seule partie sous forme de texte car difficiles à résumer en pictogrammes. De nouveaux commentaires sont ajoutés chaque fois qu'un cas particulier est rencontré.

I.3 3ème phase : travail individuel de cotation des publications relatives aux études de stabilité des médicaments anticancéreux

À partir de cette étape commence véritablement la phase de cotation de toutes les publications relatives aux études de stabilité de médicaments anticancéreux injectables. Celle-ci s'est déroulée de la façon suivante.

I.3.1 Inventaire des publications à coter

Pour n'oublier aucune publication, nous avons d'une part fait une recherche par molécule dans Stabilis® en utilisant l'onglet « liste des molécules » et en choisissant les unes après les autres toutes les molécules anticancéreuses ou cytostatiques, comme le montre la figure 20.



Figure 20 : Aperçu de l'écran de recherche de toutes les publications concernant les anticancéreux

Pour chaque molécule sélectionnée, la bibliographie apparaît alors à l'écran (cf. figure 21). Les numéros de référence (accolade rouge) ont été relevés et nous avons créé un fichier Excel™ répertoriant la totalité des références à coter.

	Type	Source
57	Revue	Mayron D, Gennaro AR. Stability and compatibility of granisetron hydrochloride in IV solutions and oral liquids and during simulated Y-site injection with selected drugs. Am J Health-Syst Pharm 1996 ; 53: 294-304.
164	Revue	Benaji B, Dine T, Luyckx M, Brunet C, Goudaliez F, Mallevais ML, Cazin M, Gressier B, Cazin JC. Stability and compatibility of cisplatin and carboplatin with PVC infusion bags. J Clin Pharm Ther 1994 ; 19: 95-100.
166	Revue	Rochard E, Barthes D, Courtois P. Stability and compatibility study of carboplatin with three portable infusion pump reservoirs. Int J Pharm 1994 ; 101: 257-262.
409	Revue	Cheung YW, Cradock JC, Vishnuvajjala BR, Flora KP. Stability of cisplatin, iproplatin, carboplatin, and tetraplatin in commonly used intravenous solutions. Am J Hosp Pharm 1987 ; 44: 124-130.
484	Revue	Northcott M, Allsopp MA, Powell H, Sewell GJ. The stability of carboplatin, diamorphine, 5-fluorouracil and mitozantrone infusions in an ambulatory pump under storage and prolonged "in use" conditions. J Clin Pharm Ther 1991 ; 16: 123-129.
486	Revue	Diaz Amador F, Sevilla Azzati E, Herreros de Tajeda y Lopez-Coterilla A. Stability of carboplatin in polyvinyl chloride bags. Am J Health-Syst Pharm 1998 ; 55: 602, 604.
645	Revue	Sewell GJ, Riley CM, Rowland CG. The stability of carboplatin in ambulatory continuous infusion regimes. J Clin Pharm Ther 1987 ; 12: 427-432.

Figure 21 : Aperçu de la bibliographie d'une monographie sur Stabilis®

D'autre part, nous avons pris toutes les publications concernant toutes les classes pharmacologiques par ordre croissant (cf. figure 22) pour vérifier que toutes celles correspondant à un anticancéreux figuraient bien dans le tableau Excel™ nouvellement créé.

Bibliographie

Référence	Type Source	Titre Auteurs	Année
1	Revue Am J Health-Syst Pharm 1996 ; 53: 1939-1943.	Stability of cidofovir in 0.9% sodium chloride and in 5% dextrose injection. Yuan LC, Samuels GJ, Visor GC.	1996
2	Revue Am J Hosp Pharm 1994 ; 51: 88-90.	Stability of foscarnet in 0.9% sodium chloride injection. Woods K, Steinmann W, Bruns L, Neels JT.	1994
3	Revue Am J Health-Syst Pharm 1995 ; 52: 2208-2212.	Compatibility of amifostine with selected drugs during simulated Y-site administration. Trissel LA, Martinez JF.	1995
4	Revue Act Pharm Biol Clin 1995 ; 8: 525-528.	Reconstitution centralisée du ganciclovir : méthode de contrôle et étude de stabilité. Zazempa V, Morgenszejn J, Paul M, Astier A.	1995
5	Revue Am J Health-Syst Pharm 1996 ; 53: 1583-1588.	Stability of deferoxamine mesylate, floxuridine, fluorouracil, hydromorphone hydrochloride, lorazepam, and midazolam hydrochloride in polypropylene infusion-pump syringes. Stiles ML, Allen LV Jr, Prince SJ.	1996
6	Revue Am J Hosp Pharm 1994 ; 51: 2138-2142.	Compatibility and stability of ondansetron hydrochloride with morphine sulfate and with hydromorphone hydrochloride in 0.9% sodium chloride injection at 4, 22 and 32°C. Trissel LA, Xu QA, Martinez JF, Fox JL.	1994

Figure 22 : Aperçu de la sélection des publications relatives aux anticancéreux parmi toutes les références, triées par ordre croissant sur Stabilis®

I.3.2 Critères d'exclusion

Parmi les données de stabilité concernant un anticancéreux, toutes celles fournies par un laboratoire pharmaceutique ont été exclues et sont saisies en tant que « Laboratoire » à la place de la cotation.

Les études relatives à la recherche de compatibilité/incompatibilité (entre deux médicaments, entre un médicament et un solvant) et les études relatives à l'influence de paramètres influençant la stabilité comprenant notamment les études d'interactions contenant/contenu ont été exclues, et saisies en « non applicable » en ajoutant un commentaire pour justification.

Les études portant sur la stabilité de médicaments anticancéreux non injectables ont été exclues. La stabilité d'une suspension ou d'une solution buvable sont des données importantes pour la pratique clinique mais ne font pas l'objet de ce mémoire.

Pour les cas où plusieurs médicaments seraient étudiés dans une même publication avec une méthode différente ou des résultats plus ou moins précis selon ces médicaments, nous avons choisi de mettre un « joker ». Le détail de la cotation attribué pour chaque médicament sera toutefois visualisable.

I.3.3 Phase de cotation proprement dite

Toutes les publications à coter ont ensuite été analysées de la même façon. Ainsi pour chaque article nous avons :

- Entouré les critères sur le formulaire d'évaluation au fur et à mesure de la lecture critique de l'article
- Attribué la note finale selon notre grille de cotation
- Archivé le formulaire complété (sous format papier et/ou informatique) avec l'article original
- Saisi les renseignements dans Stabilis® dans l'écran de saisie
- Relevé la date de parution et la revue scientifique
- Relevé l'équipe ayant réalisé l'étude pour alimenter la base de données secondaire des équipes impliquées en Europe

Pour effectuer cette saisie, l'utilisateur choisit l'onglet « bibliographie » et appelle l'article grâce à son numéro de référence. La page présentée en figure 23 s'ouvre : elle contient le titre, la liste des auteurs de l'étude ainsi que la revue dans laquelle elle est parue.

La partie basse correspond à l'écran de saisie conçu à cet effet par un informaticien.

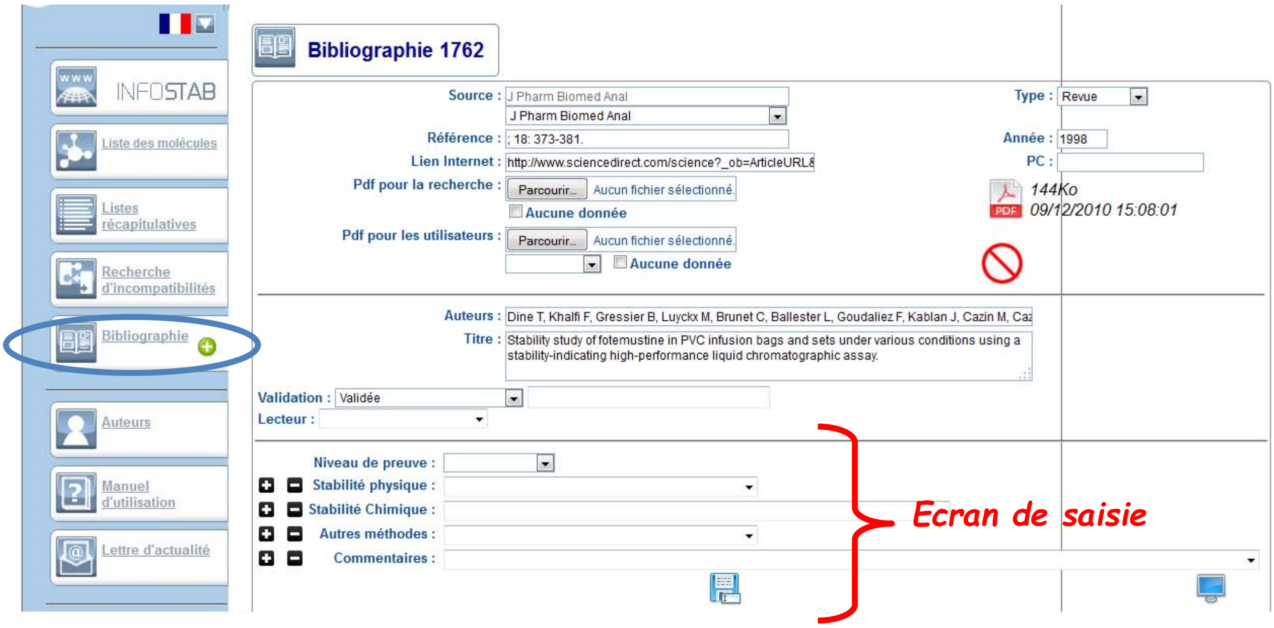


Figure 23 : Aperçu de l'écran de saisie d'une publication

On y retrouve les champs à compléter : niveau de preuve, stabilité physique, stabilité chimique, autres méthodes, commentaires. Les éléments saisis en passant par l'onglet « dictionnaire » comme expliqué au paragraphe précédemment, alimentent ainsi chaque rubrique sous forme de menu déroulant (cf. figure 24). L'utilisateur sélectionne les critères correspondant à l'article qu'il évalue et enregistre sa cotation.

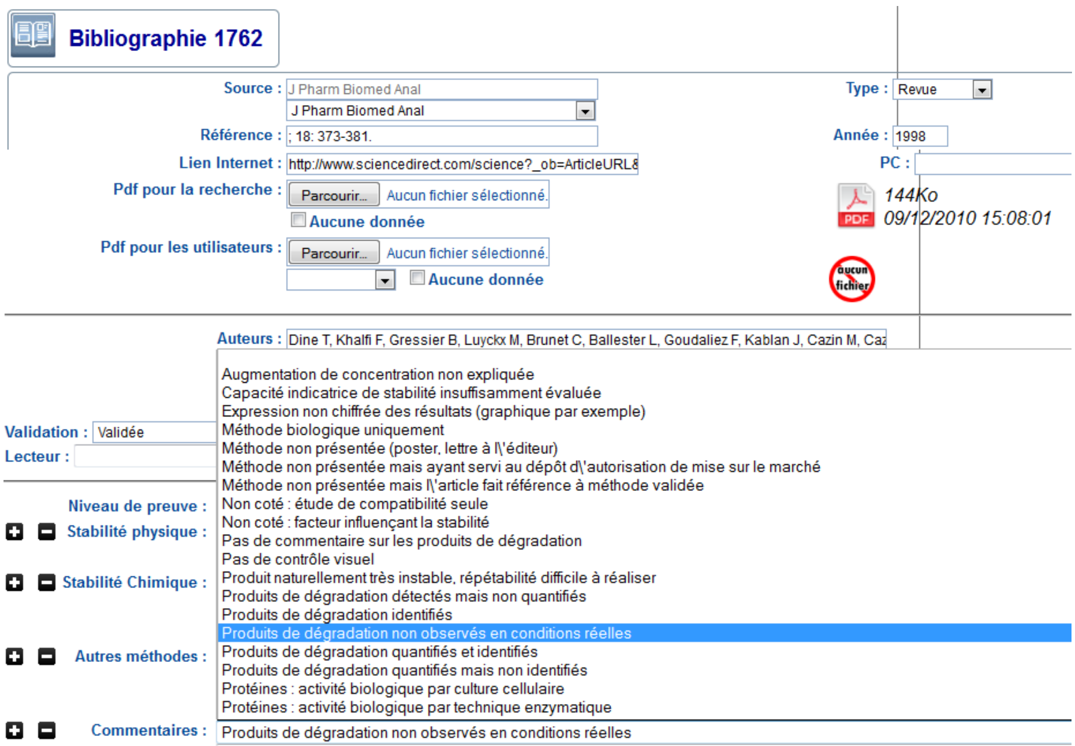


Figure 24 : Aperçu du menu déroulant pour la rubrique "commentaires"

I.3.4 Création de la base de données des équipes impliquées dans les études de stabilité en Europe

L'objectif secondaire de notre travail était la création d'une base de données des équipes impliquées dans les études de stabilité en Europe. Comme nous avions relevé le nom de l'équipe pour chaque article analysé, nous avons créé un fichier provisoire répertoriant ces équipes.

I.3.5 Création de l'écran de visualisation

Enfin, en collaboration avec un informaticien, nous avons créé l'écran de visualisation qui apparaîtra lors de la consultation d'un article par les utilisateurs de la base de données.

II Résultats

II.1 Nombre de publications relatives aux anticancéreux

Comme énoncé auparavant, la base de données Stabilis® contient au 1er août 2013, 3442 publications, correspondant à 633 monographies dont 410 médicaments injectables comprenant 79 médicaments anticancéreux. Nous savions que les anticancéreux constituaient une des classes pharmacologiques les plus étudiées. Notre travail a montré que 504 publications concernent effectivement des anticancéreux, soit environ 15% des publications. Parmi les 3442 publications, de nombreuses étaient refusées et d'autres concernent des formes non injectables, parmi lesquelles on trouve très peu de chimiothérapies. Si l'on prenait les publications relatives uniquement aux médicaments injectables, nous pourrions constater que les médicaments anticancéreux constitueraient la classe la plus représentée.

Parmi ces 504 publications, 127 étaient d'emblées refusées (25%) : leurs informations ne sont pas mises en ligne sur Stabilis® et les utilisateurs n'y ont pas accès. Nous ne les avons donc pas analysées. Ces articles étaient issus de recherches par mots-clés dans les revues habituelles et avaient été refusés dès la première lecture en raison du manque de fiabilité ou lorsque les données fournies étaient inexploitables ou inapplicables à la pratique pharmaceutique. Ils sont toutefois conservés dans les archives de Stabilis® accessibles pour les administrateurs afin de ne pas les rechercher une deuxième fois. Lorsque l'on lit un article pour la première fois afin de l'ajouter à la base de données, le premier réflexe du lecteur est d'examiner la bibliographie. Si, d'après son titre, une référence semble intéressante pour Stabilis®, elle sera recherchée. Il est donc important de conserver les articles refusés pour ne pas les chercher à nouveau lors de cette étape.

Par exemple, Zhang *et al*. ont mené une étude sur la stabilité du Rituximab [82]. La définition de la stabilité retenue dans cet article était le maintien de 85% de la concentration initiale. Or les ICH recommande 90% et la conférence de consensus européenne 95% de la concentration initiale pour les médicaments anticancéreux. Mais surtout, le Rituximab étant un anticorps monoclonal, l'étude aurait dû reposer sur plusieurs méthodes analytiques comme la CEX ou la SEC, or seule une méthode ELISA a été mise en œuvre. Cet article a donc été d'emblée refusé.

De même, l'étude de stabilité du 5-Fluorouracile réalisée par Sesin *et al*. [89] n'est fondée que sur une spectrophotométrie UV sans technique sélective.

Cinquante-neuf données étaient fournies par des laboratoires (12%) et sont donc cotées en « Laboratoire » dans Stabilis®.

Les 318 autres articles sont répartis de la façon suivante : 113 articles présentent un critère d'exclusion (22%), 9 articles sont restés en attente (2%) et nous avons coté 196 publications (39%) (cf. figure 25).

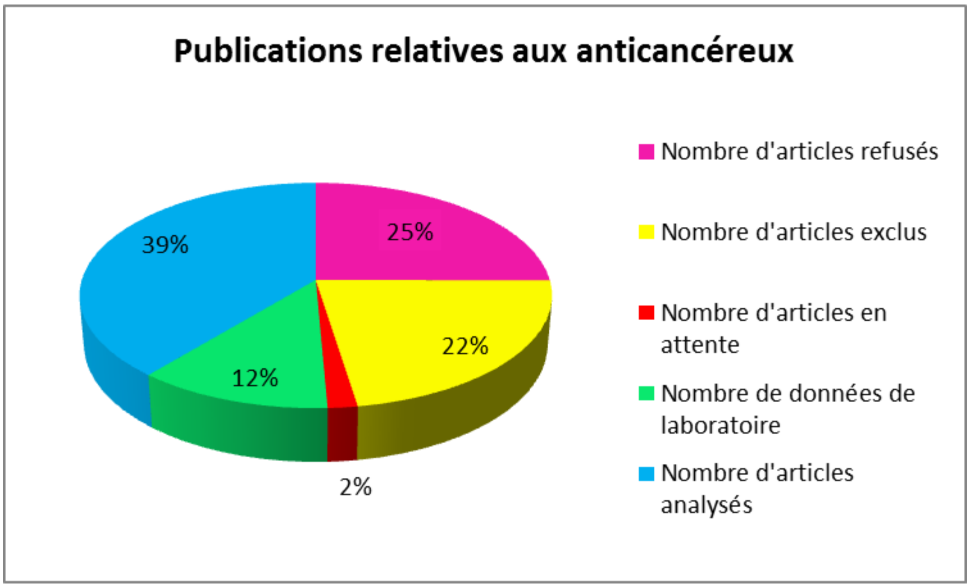


Figure 25 : répartition des publications relatives aux anticancéreux

II.2 Articles exclus et répartition selon le critère d'exclusion

Cent-treize publications relatives à des anticancéreux présentent un critère d'exclusion (22%).

Les motifs d'exclusion ont été les suivants (cf. figure 26) :

- molécule retirée du marché (1 article)
- anticancéreux non injectables (6 articles)
- données issues d'une publication trop succincte difficile à juger (2 articles)
- publications étudiant les facteurs influençant la stabilité (45 articles)
- études de compatibilités physicochimiques (59 articles)

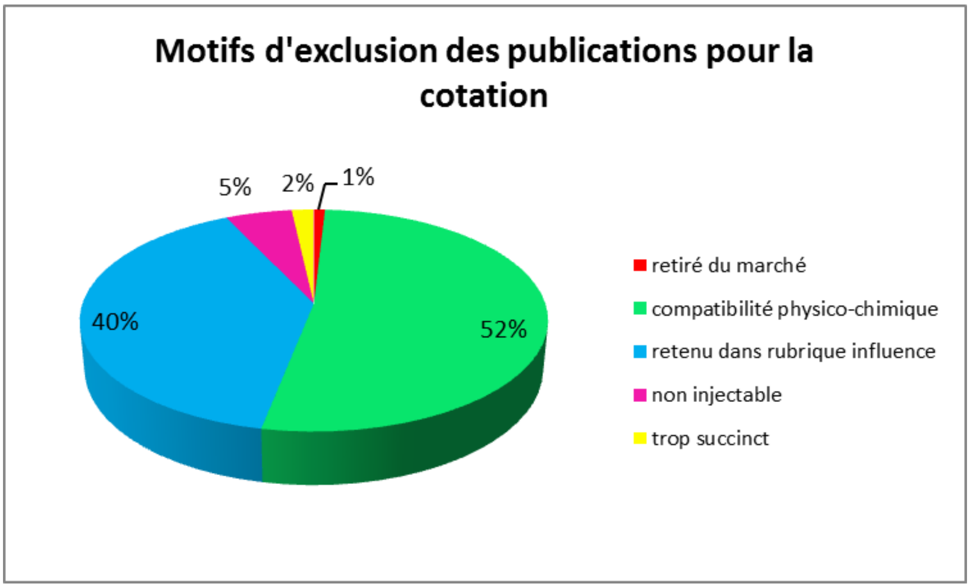


Figure 26 : Répartition des articles exclus selon les critères d'exclusion

II.2.1 Anticancéreux non injectables

Six études portaient sur des formes non injectables, soit 5% : il s'agissait de formes dermiques de mechlorethamine et de bléomycine, des suspensions orales de cyclophosphamide et de mercaptopurine et d'une solution orale d'étoposide.

II.2.2 Étude des facteurs influençant la stabilité

L'étude des facteurs influençant la stabilité concernent 40% des articles exclus.

Les facteurs influençant la stabilité les plus étudiés sont la lumière, la température et le pH. Par exemple, Fredriksson *et al*. ont étudié l'influence de la variation de ces 3 paramètres sur la stabilité de la carmustine [90].

Un autre cas fréquent de publications concerne les études d'interaction contenant/contenu. C'est le cas du paclitaxel (Taxol®) pour lequel l'utilisation de matériaux en PVC est proscrite en raison du relargage de phtalates et notamment de DEHP [91-96]. De même le 5-Fluorouracile précipite en contact avec des élastomères [97-98] (cf. figures 27 et 28).

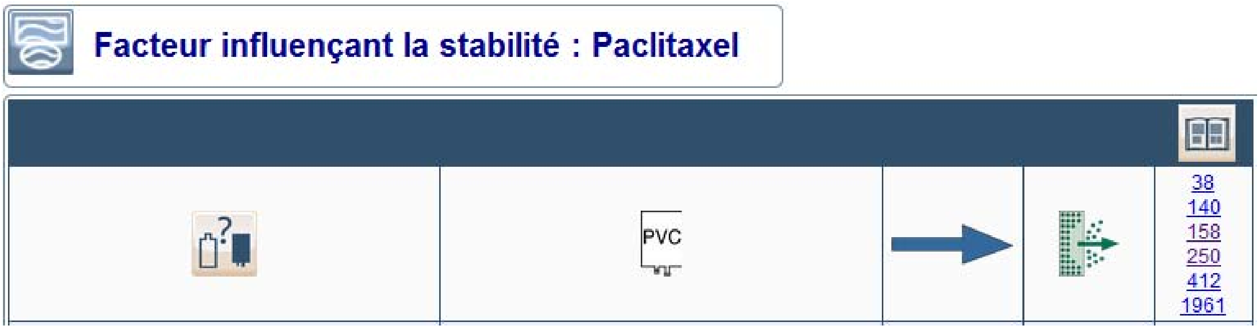


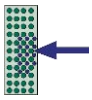
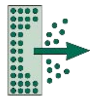
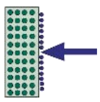
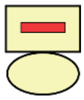
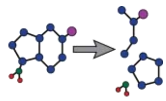
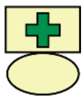
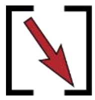
Figure 27 : Exemples de facteurs influençant la stabilité du paclitaxel



Figure 28 : Exemples de facteurs influençant la stabilité du 5-Fluorouracile

Les différentes conséquences pouvant survenir sont présentés dans le tableau XII ci-dessous.

Tableau XII : Conséquences possibles des facteurs influençant la stabilité

Conséquences	Pictogrammes	Conséquences	Pictogrammes
Absorption		Relargage	
Adsorption		Précipitation	
Diminution de la stabilité		Dégradation	
Augmentation de la stabilité		Diminution de la concentration	

Ce type d'étude est cotée en « non applicable », accompagnée d'un commentaire de justification comme le montre la figure 29.

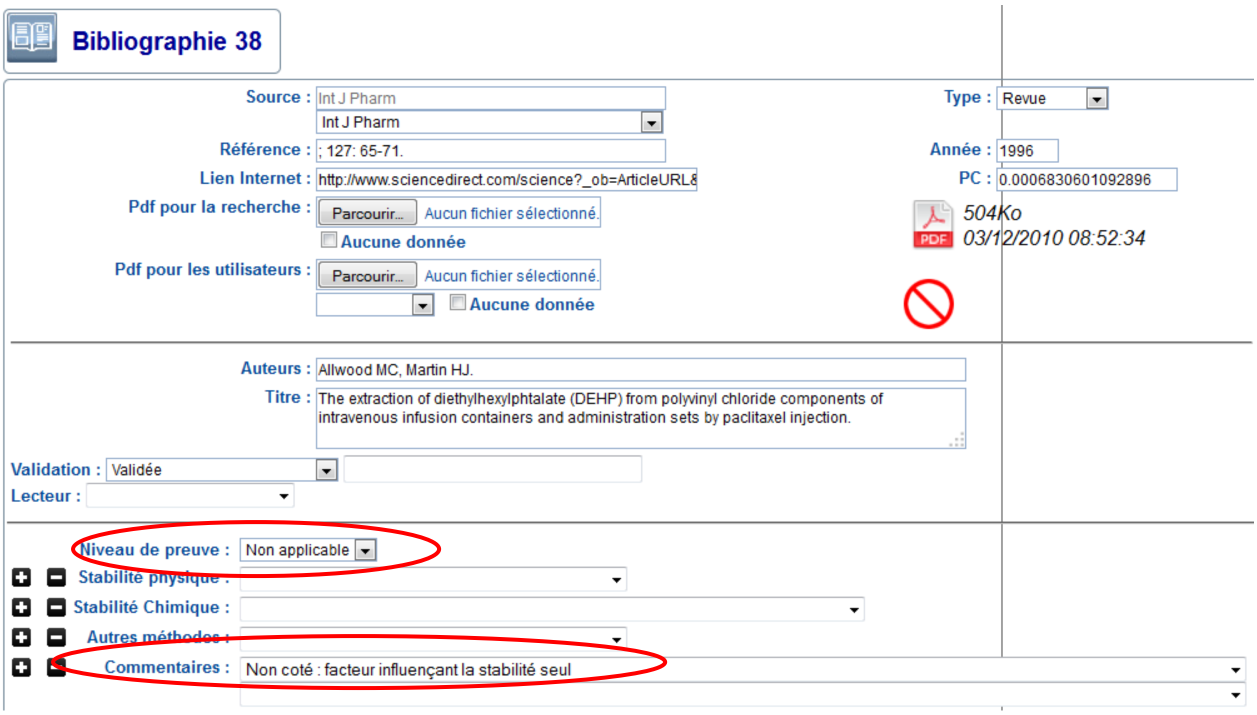


Figure 29 : Aperçu de l'écran d'une publication exclue portant sur l'étude de facteurs influençant la stabilité

II.2.1 Études de compatibilités physico-chimiques

Parmi les études de compatibilités physico-chimiques, qui représentent 52% des articles exclus, nous trouvons les compatibilités entre une molécule et un solvant donné ou une autre molécule.

Par exemple, la carmustine est compatible avec le bicarbonate de sodium [99], tout comme la gemcitabine et la cytarabine [21, 100]. Chang *et al*. ont établi que la présence d'ions chlorures en solution augmentait la stabilité du melphalan [101].

Le granisétron est incompatible avec l'amsacrine [19] (cf. figure 30), alors que l'ondansétron est compatible avec de nombreux anticancéreux [20].

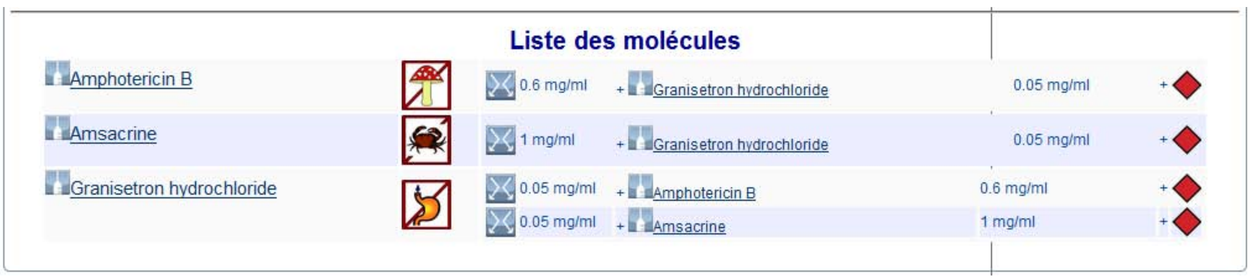


Figure 30 : Exemple d'incompatibilités physico-chimiques entre l'amsacrine et le granisétron selon Trissel

Ce type d'étude est cotée en « non applicable » accompagné d'un commentaire de justification comme le montre la figure 31.

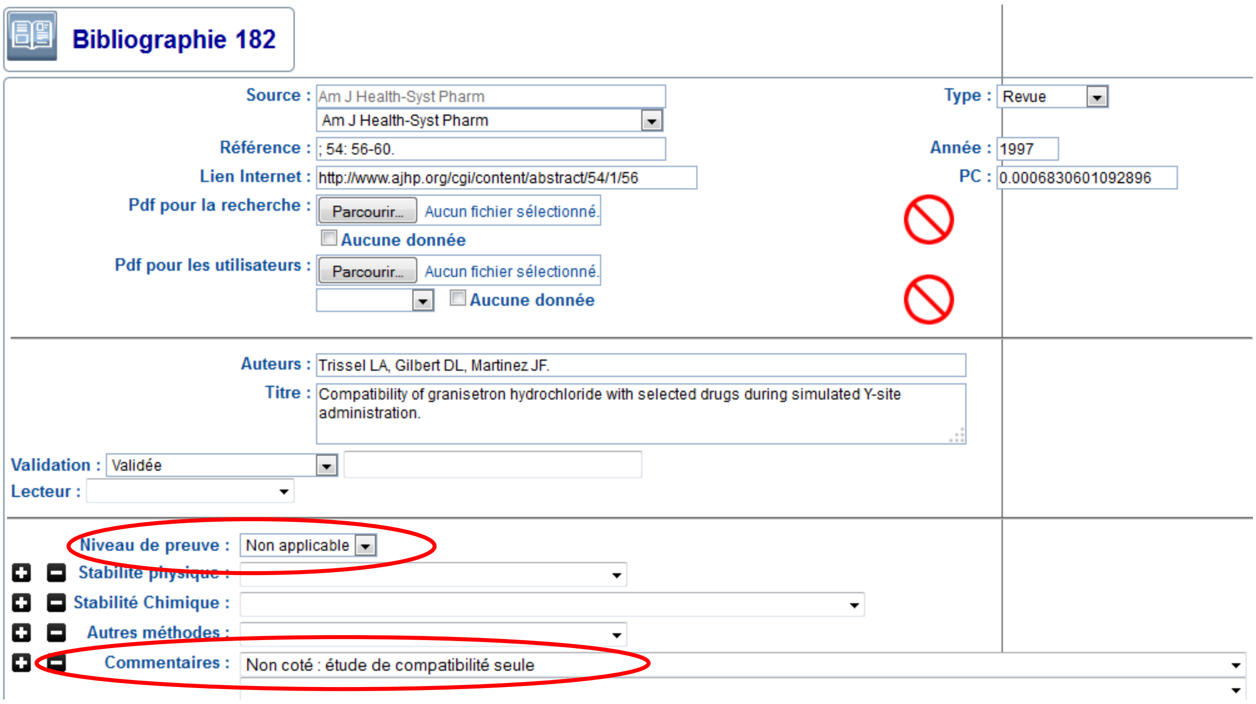


Figure 31 : Aperçu de l'écran d'une publication exclue portant sur l'étude de compatibilités physico-chimiques

II.3 Répartition par cotation

Au total, nous avons coté 196 publications de A+ à E selon la répartition figurant en figure 32.

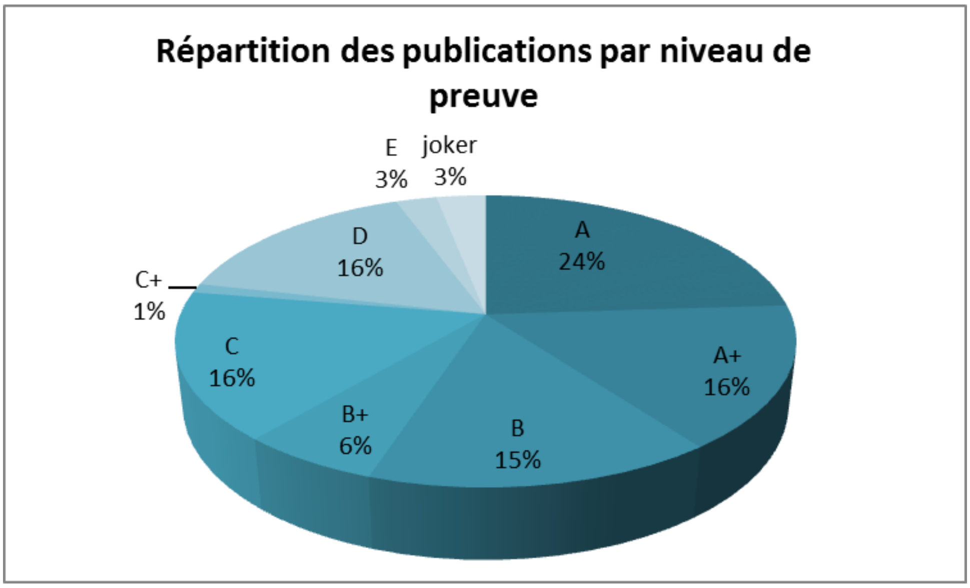


Figure 32 : Répartition par niveau de preuve des publications cotées

II.3.1 Cotation A et A+

Les niveaux de preuve A (47 articles, 24%) et A+ (31 articles, 16%) cumulés représentent une majorité des publications (40%).

Pour obtenir un si bon niveau de preuve, les auteurs doivent envisager la stabilité physique et chimique pour les molécules classiques. Pour les protéines, l'activité biologique doit s'ajouter à ces 2 aspects. La différence entre un A et un A+ tient à un examen subvisuel.

Par exemple, l'étude de stabilité de la daunorubicine menée par Respaud *et al.* [102] est tout à fait complète avec un examen par turbidimétrie qui met en évidence les particules non visibles à l'œil nu.

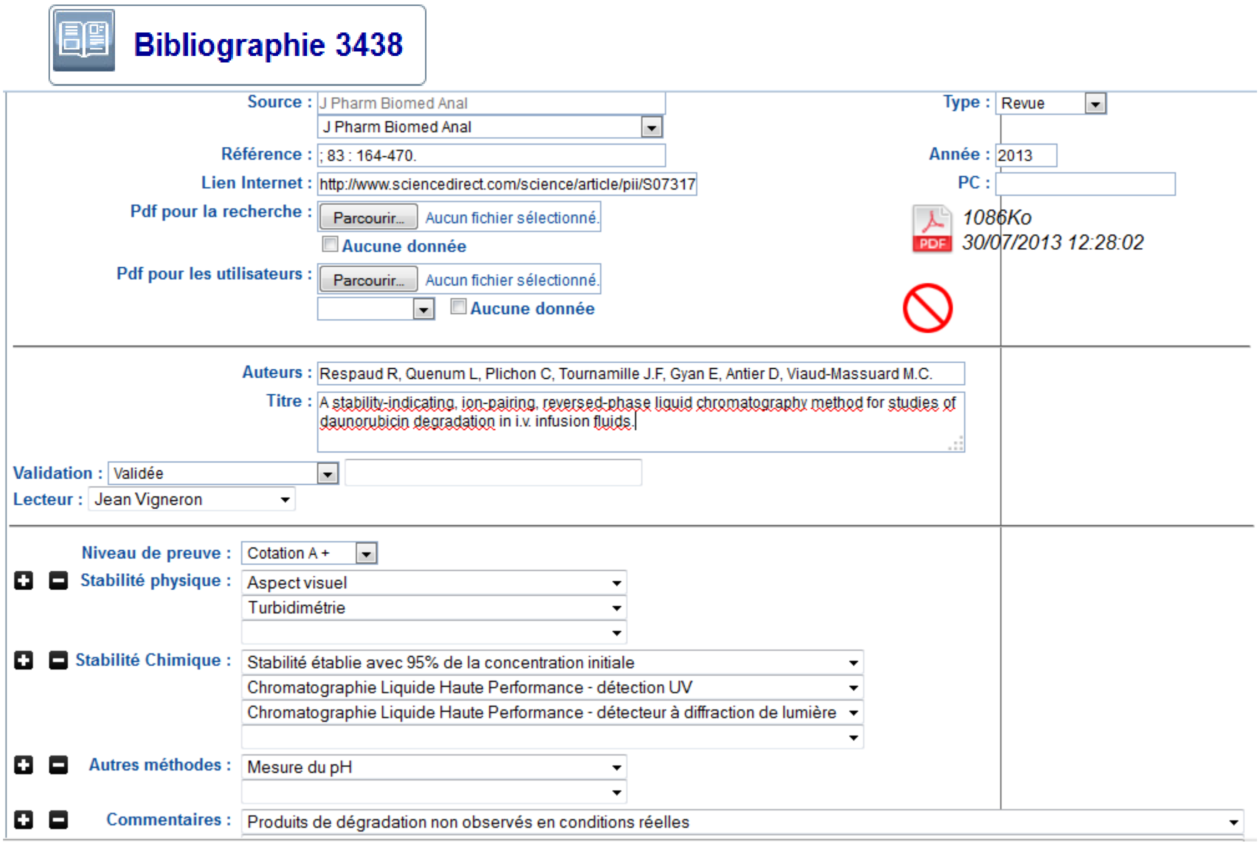


Figure 33 : Aperçu de l'écran de saisie d'une publication cotée A+ (molécule classique)

Parmi les 31 publications cotées en A+, seulement 3 concernent des protéines [83, 103-104]. Il s'agit dans 2 cas d'études sur le Rituximab et d'une étude de stabilité de la L-asparaginase. Toutes ont été réalisées par l'équipe du Professeur ASTIER au Centre Hospitalier Henri Mondor de l'AP-HP.

Des écrans de saisie de publications cotées en A+ d'une publication relative à la stabilité d'une molécule classique et d'une protéine sont présentés respectivement en figures 33 et 34, nous y voyons bien la totalité des critères présentés au paragraphe II.3 et II.4 de la première partie.

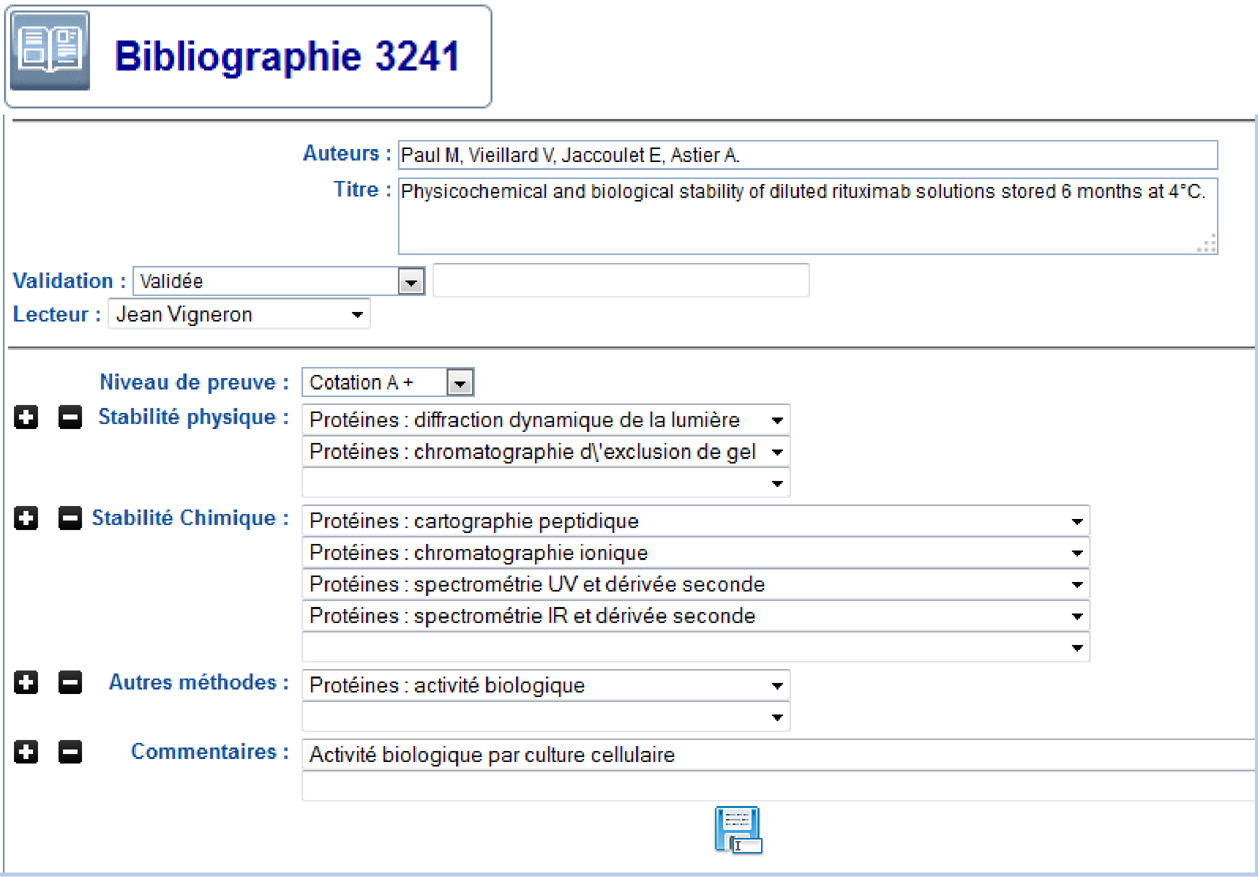


Figure 34 : Aperçu de l'écran de saisie d'une publication cotée A+ (protéines)

Des exemples de formulaires d'évaluation complétés figurent aux annexes 8, 9 et 10 respectivement pour le cas d'une publication cotée A+ (molécules classique), A+ (protéine) et A (molécule classique).

II.3.2 Cotation B et B+

Quinze publications sont cotées en B+ (6%) et 30 le sont en B (15%), soit un total de 21%.

Pour les molécules classiques, deux cas de figure peuvent expliquer un niveau de preuve en B (cf. grille de cotation en Annexe 6) :

- une stabilité établie avec une concentration finale supérieure ou égale à 90% de la concentration initiale au lieu de 95% comme le préconise la conférence de consensus européenne
- ou une stabilité bien établie avec 95% de la concentration initiale mais l'absence d'un contrôle visuel et donc de stabilité physique

La même différence qu'entre un A et un A+ explique celle entre un B et un B+, c'est-à-dire la réalisation d'un examen subvisuel. Des exemples de formulaires d'évaluation complétés figurent aux annexes 11 et 12 respectivement pour le cas d'une publication cotée B+ et B.

Les figures 35 et 36 fournissent des exemples de saisies de publications cotées B. Nous voyons que le motif de décote en B est indiqué dans la rubrique «commentaires» pour l'absence de contrôle visuel.

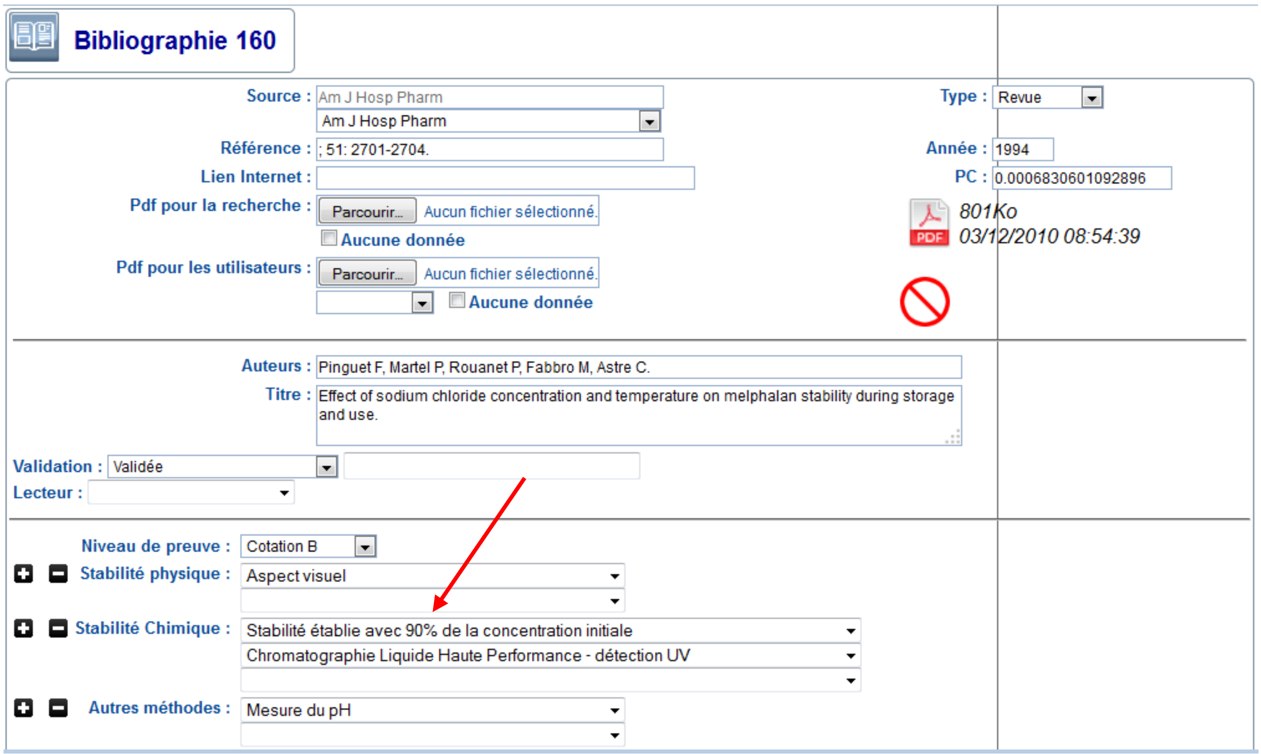


Figure 35 : Aperçu de l'écran de saisie d'une publication cotée B, concentration à 90%

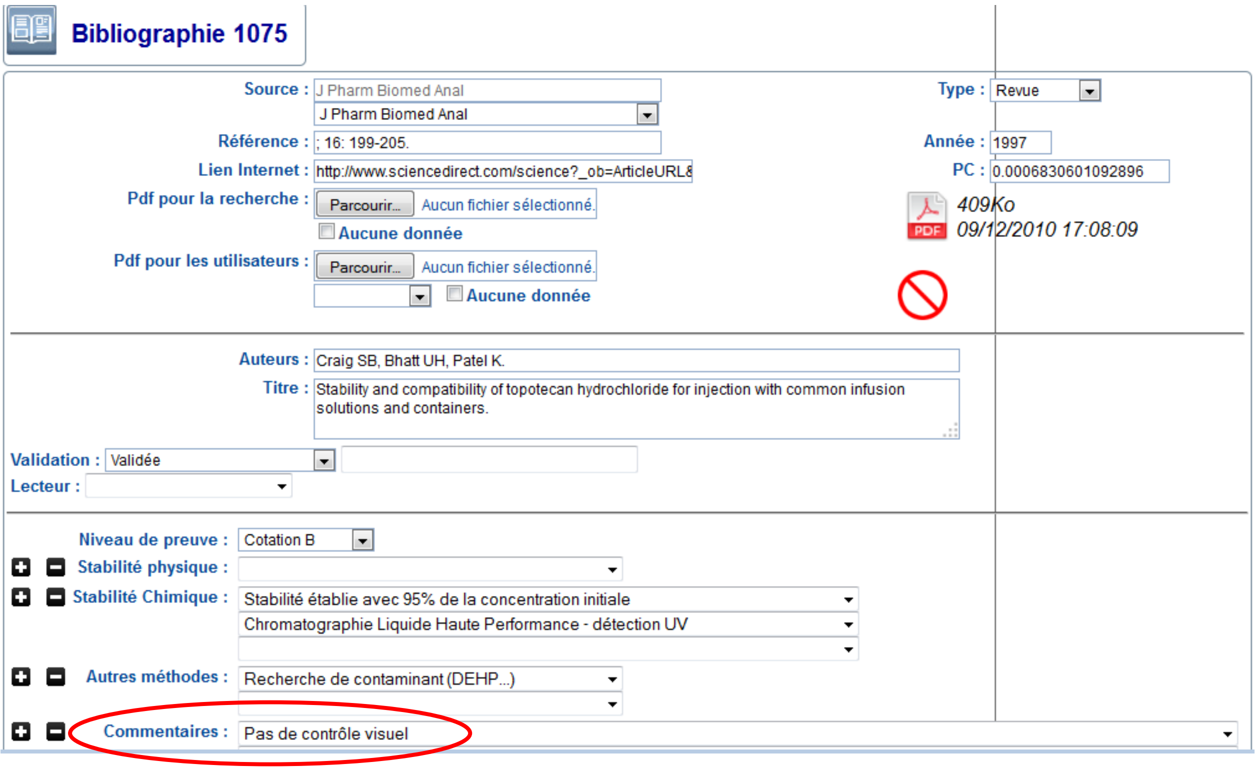


Figure 36 : Deuxième aperçu de l'écran de saisie d'une publication cotée B, absence de contrôle visuel

Pour le cas des protéines, un B correspond à l'utilisation des méthodes physiques et chimiques recommandées, mais sans étude biologique.

Pour les 15 articles cotés B+, 8 sont des études de protéines sans méthode biologique. Toutes les autres sont des études de molécules classiques où un examen subvisuel a été mené mais où la stabilité a été établie avec seulement 90% de la concentration initiale.

Parmi les 30 articles cotés au niveau B, 10 sont des études sans l'aspect visuel, 15 correspondent à des études où la stabilité était établie avec 90% de la concentration initiale. Ces deux derniers critères étaient présents pour 5 publications.

II.3.3 Cotation C et C+

Nous avons attribué un niveau de preuve C à 32 publications (16%).

Pour les molécules classiques : un C implique que la stabilité est établie avec 95% de la concentration initiale mais que 2 critères au maximum représentent une limite relative la plupart du temps à la validation incomplète de la méthode (cf. Annexe 6).

La répartition en fonction de ces critères est la suivante (cf. figure 37) :

- ✓ Un manque de précision/linéarité : 15 articles. Le commentaire saisi est "*Répétabilité / reproductibilité / gamme étalon : résultats non fournis ou en dehors des bornes fixées*"
- ✓ Une capacité indicatrice de stabilité pas totalement justifiée : 5 articles. Le commentaire correspondant est "*Capacité indicatrice de stabilité insuffisamment évaluée*"
- ✓ L'utilisation d'une autre méthode (CCM) : 1 article
- ✓ L'association du critère précision avec une variabilité des résultats : 4 articles. Le commentaire à cette variabilité est "*Résultats avec coefficient de variation élevé ou non fourni, ou absence d'analyse en double de chaque point*". Les CV doivent être inférieurs à 5%.
- ✓ L'association des 2 critères précision et capacité indicatrice : 5 articles
- ✓ Le cas des étalons internes dont la séparation avec le produit ou ses PD est mal évaluée : 2 articles. Le commentaire correspondant est "*Séparation de l'étalon interne par rapport au produit à l'étude ou ses produits de dégradation imparfaite, ou insuffisamment étudiée*".

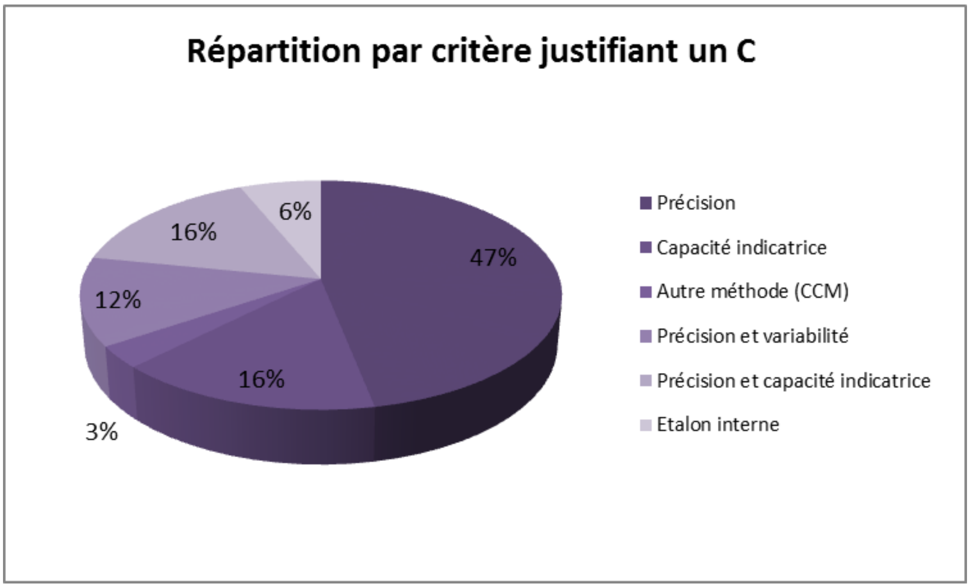


Figure 37 : Répartition des publications cotées C en fonction de nos critères

La précision/linéarité constitue donc le critère de décote le plus fréquent (47%). Il peut s'agir d'un coefficient de corrélation insuffisant, ou de CV intra-série et/ou inter-série supérieurs aux limites que nous avons fixées. Parfois, ces éléments ne sont pas du tout présentés.

Les figures 38 et 39 fournissent des exemples de saisies de publications cotées C où les critères de décote en C sont indiqués dans la rubrique «commentaires ».

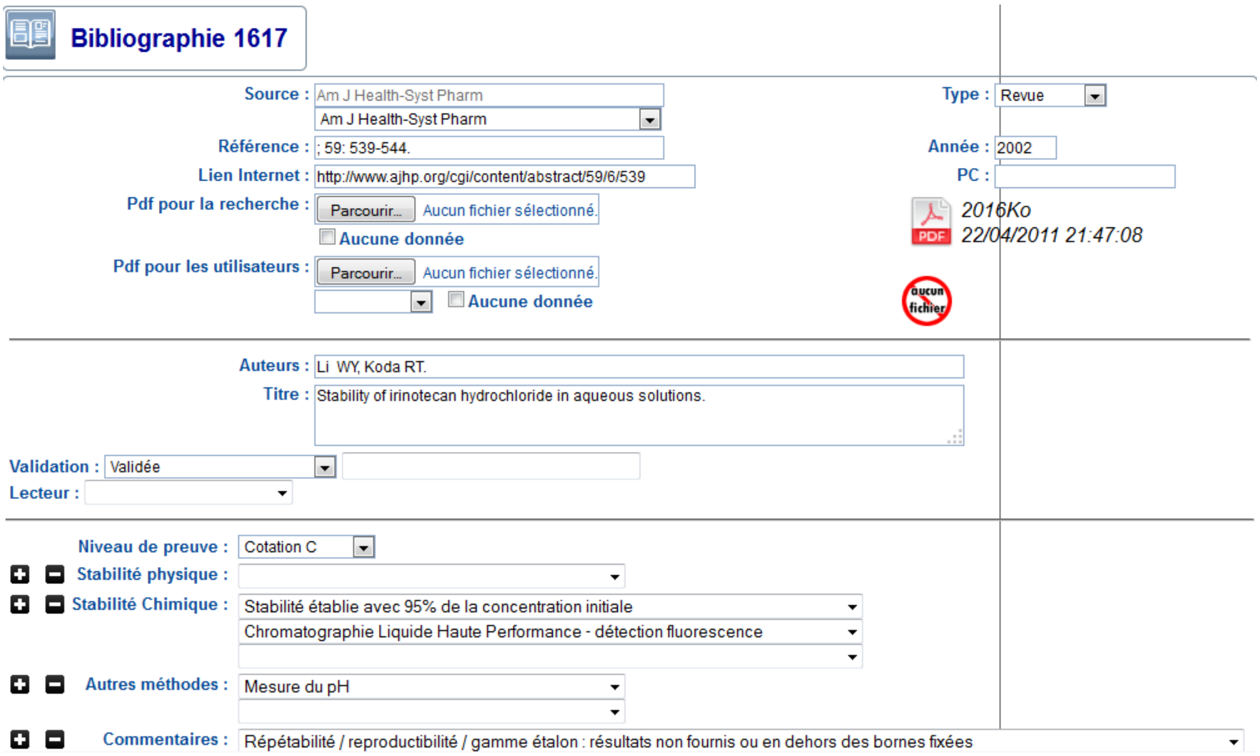
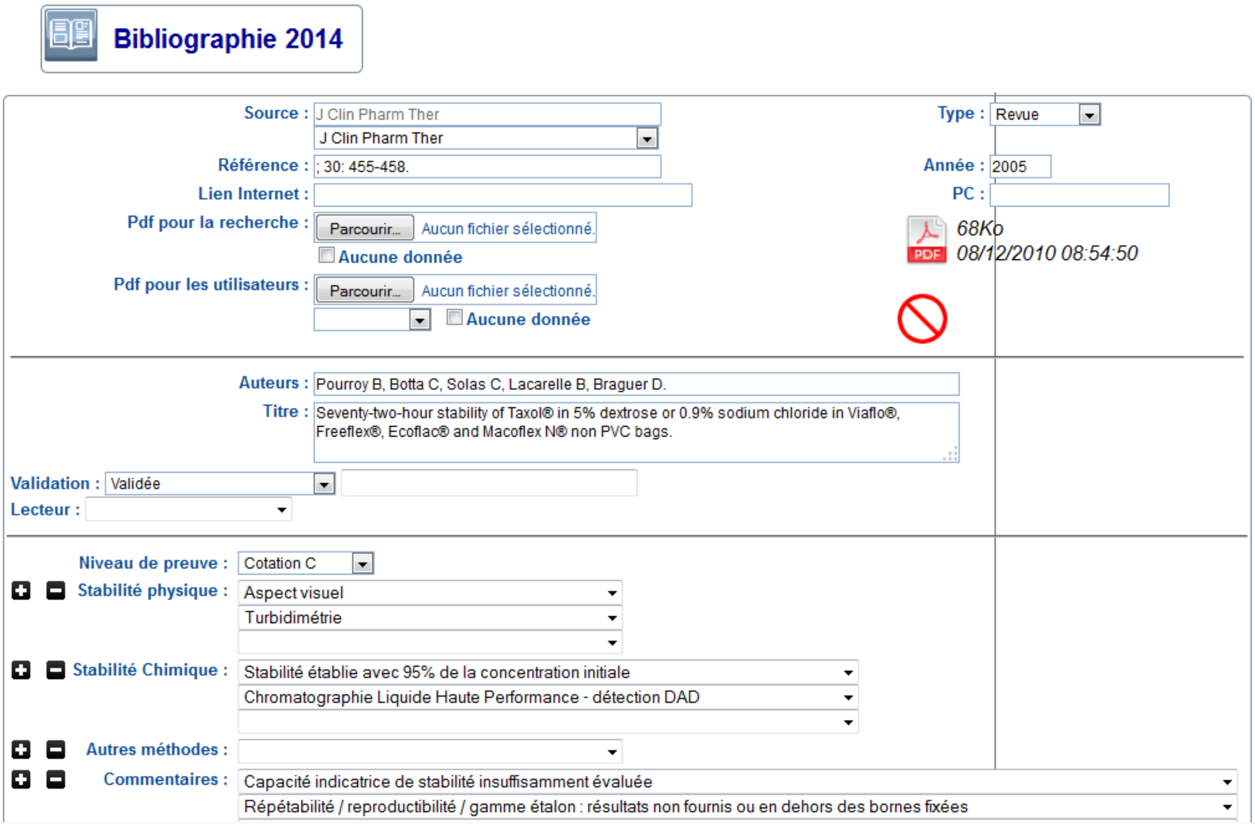


Figure 38 : Aperçu de l'écran de saisie d'une publication cotée C (précision)


Bibliographie 2014

Source : J Clin Pharm Ther
J Clin Pharm Ther
Type : Revue
Référence : ; 30: 455-458.
Année : 2005
Lien Internet :
PC :
Pdf pour la recherche : Parcourir... Aucun fichier sélectionné.
Aucune donnée
68Ko
08/12/2010 08:54:50
Pdf pour les utilisateurs : Parcourir... Aucun fichier sélectionné.
Aucune donnée
Auteurs : Pourroy B, Botta C, Solas C, Lacarelle B, Braguer D.
Titre : Seventy-two-hour stability of Taxol® in 5% dextrose or 0.9% sodium chloride in Viaflo®, Freeflex®, Ecoflac® and Macoflex N® non PVC bags.
Validation : Validée
Lecteur :
Niveau de preuve : Cotation C
Stabilité physique : Aspect visuel
Turbidimétrie
Stabilité Chimique : Stabilité établie avec 95% de la concentration initiale
Chromatographie Liquide Haute Performance - détection DAD
Autres méthodes :
Commentaires : Capacité indicatrice de stabilité insuffisamment évaluée
Répétabilité / reproductibilité / gamme étalon : résultats non fournis ou en dehors des bornes fixées

Figure 39 : Aperçu de l'écran de saisie d'une publication cotée C (précision et capacité indicatrice de stabilité)

Nous avons attribué un C+ à 2 publications car la précision de ces 2 études n'est pas présentée mais un examen subvisuel a été réalisé.

Des exemples de formulaires d'évaluation complétés figurent aux annexes 13 et 14 respectivement pour le cas d'une publication cotée C+ et C.

Une seule étude de stabilité d'un anticorps monoclonal, le trastuzumab, est cotée C [105], dont l'écran de saisie est présenté en figure 40. Ce niveau de preuve se justifie par la réalisation de seulement 3 méthodes au total (physiques et chimiques), sans méthode biologique, conformément à notre grille de cotation. Les commentaires présentés sont "*Protéines : nombre insuffisant de méthodes analytiques*" et "*Protéines : pas de méthode biologique*".

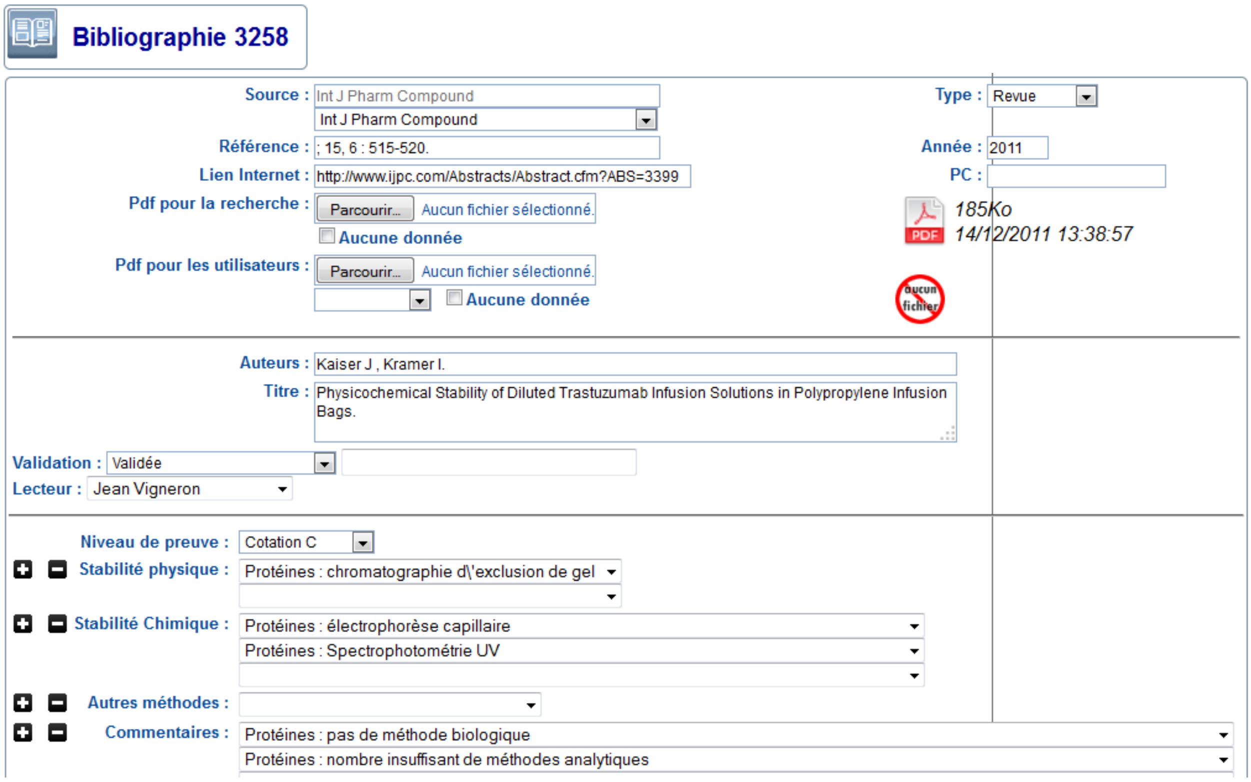


Figure 40 : Aperçu de l'écran de saisie d'une publication cotée C (protéines)

II.3.4 Cotation D

Parmi toutes les études de stabilité évaluées, 31 présentent un niveau de preuve assez faible et sont cotées D (16%).

Une seule étude relative à un anticorps, l'alemtuzumab est cotée D. Les auteurs ont en effet réalisé uniquement une SEC [106].

Comme l'indique l'Annexe 6, les 30 autres études sont :

- ✓ Des études où la stabilité est établie avec 95% de la concentration initiale, mais avec plus de 3 critères limitant
- ✓ Des études où la stabilité est établie avec 90%, quel que soit le nombre de critères
- ✓ Des études présentant une méthode non validée et des résultats non chiffrés.

Les critères sont les mêmes que pour la cotation C. La répartition est présentée en figure 41.

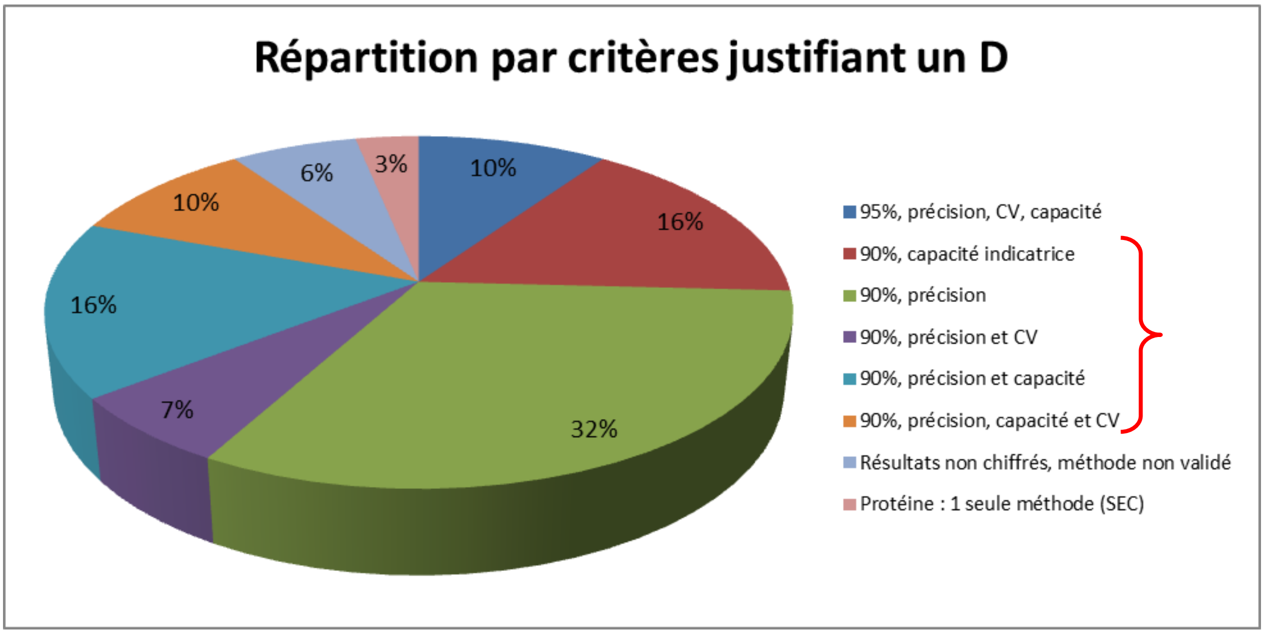
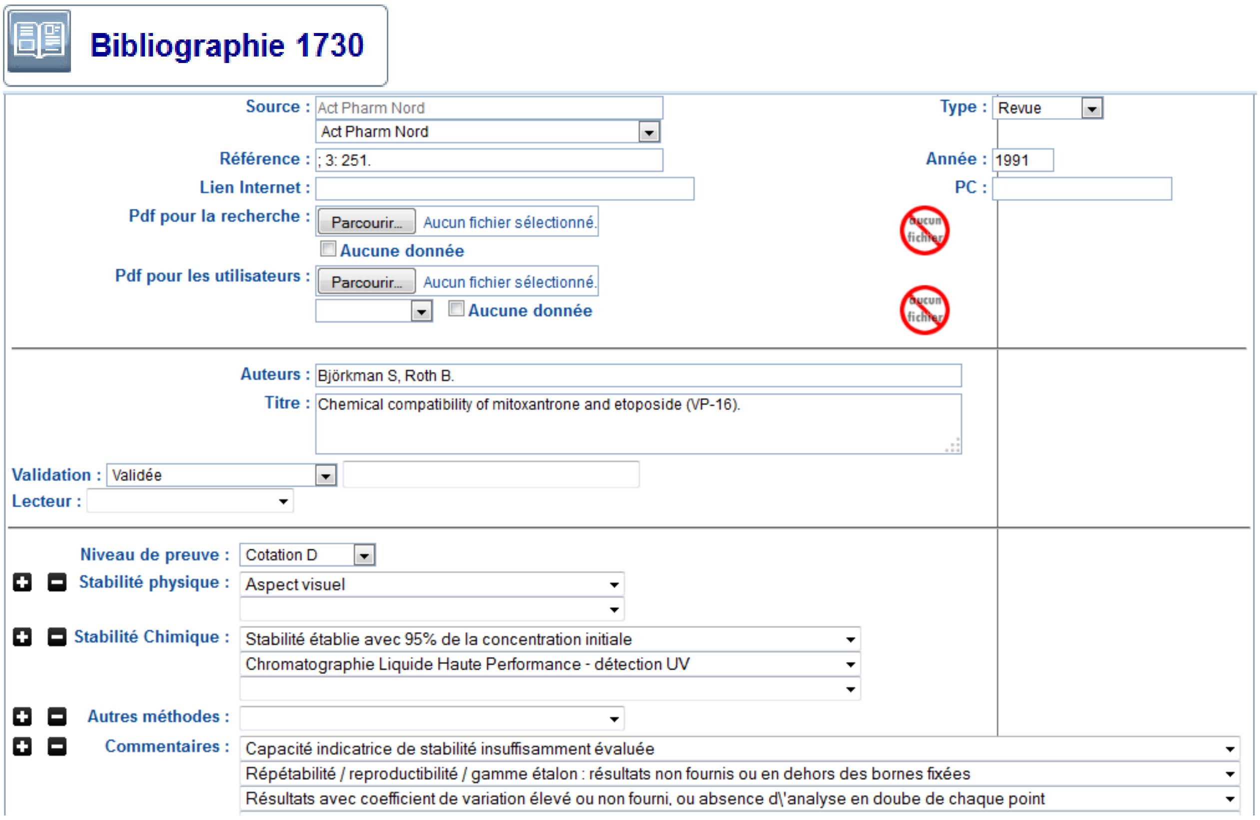


Figure 41 : Répartition des publications cotées D en fonction de nos critères

Comme pour la répartition des publications cotées C, le manque de précision est le facteur limitant le plus fréquemment responsable d'un mauvais niveau de preuve.

Les articles pour lesquels la stabilité était établie avec 95% de la concentration initiale mais pour lesquels 3 critères ont été relevés représentent une minorité de cas avec seulement 3 articles, soit 10% des cotations D. Un exemple d'écran de saisie pour ce cas de figure est présenté en figure 42.


Bibliographie 1730

Source : Act Pharm Nord
Act Pharm Nord
Type : Revue
Référence : ; 3: 251.
Année : 1991
Lien Internet :
PC :
Pdf pour la recherche : Parcourir... Aucun fichier sélectionné.
Aucune donnée
Pdf pour les utilisateurs : Parcourir... Aucun fichier sélectionné.
Aucune donnée
Auteurs : Björkman S, Roth B.
Titre : Chemical compatibility of mitoxantrone and etoposide (VP-16).
Validation : Validée
Lecteur :
Niveau de preuve : Cotation D
Stabilité physique : Aspect visuel
Stabilité Chimique : Stabilité établie avec 95% de la concentration initiale
Chromatographie Liquide Haute Performance - détection UV
Autres méthodes :
Commentaires : Capacité indicatrice de stabilité insuffisamment évaluée
Répétabilité / reproductibilité / gamme étalon : résultats non fournis ou en dehors des bornes fixées
Résultats avec coefficient de variation élevé ou non fourni, ou absence d\'analyse en doube de chaque point

Figure 42 : Aperçu de l'écran de saisie d'une publication cotée D (95%, 3 critères)

En revanche 81% des cotations D correspondent à des articles dans lesquels la stabilité était établie avec 90% de la concentration initiale et présentant un ou plusieurs critères. La répartition en fonction du nombre et du type de critère d'exclusion est disponible en figure 41 dans l'accolade rouge. Un exemple d'écran de saisie pour ce cas de figure est présenté en figure 43.

Les 9% restant correspondent à 2 articles où ne figurent ni la méthode, ni les résultats chiffrés et à l'étude de stabilité de l'alemtuzumab citée ci-dessus.

Un exemple de formulaire d'évaluation complété figure en annexe 15.

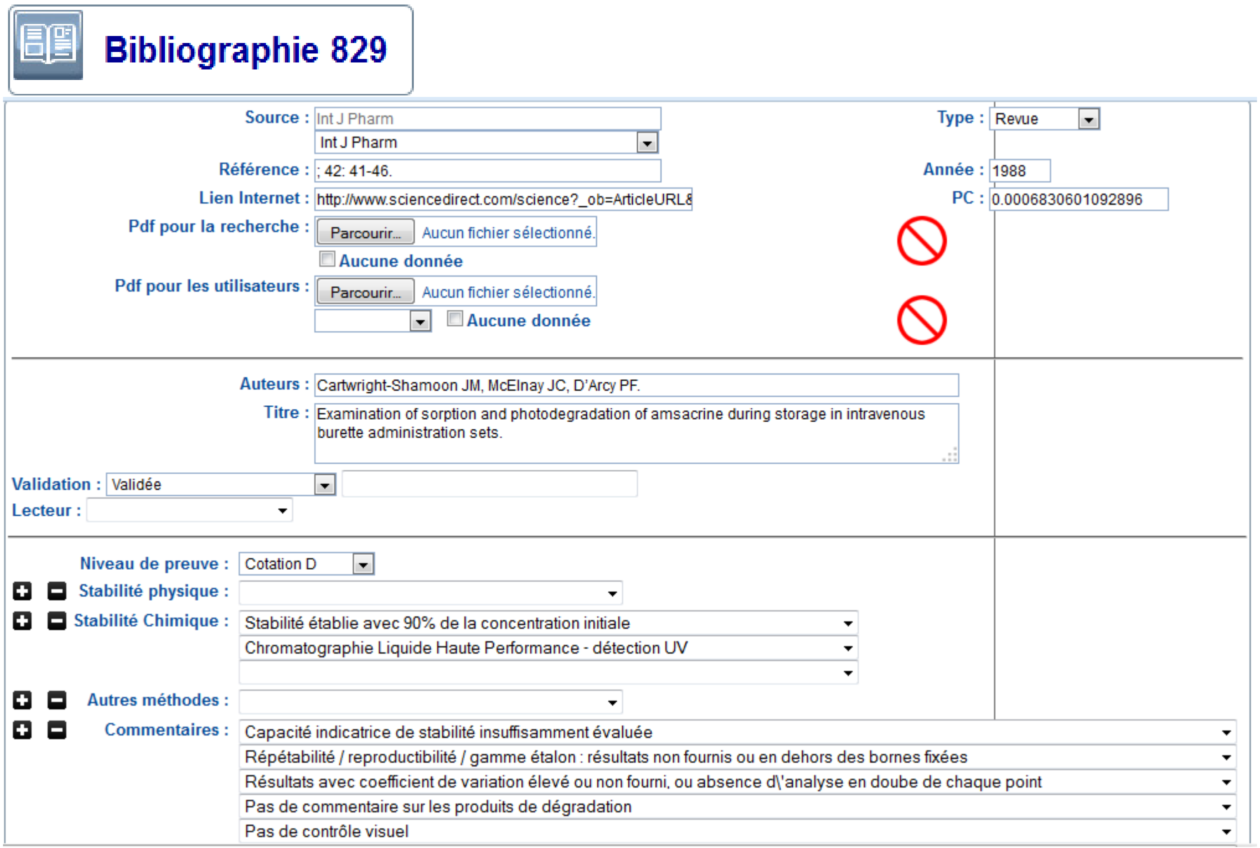


Figure 43 : Aperçu de l'écran de saisie d'une publication cotée D (90%, 1 ou plusieurs critères)

II.3.5 Cotation E

Le plus bas niveau de preuve a été attribué à 5 articles (3%). Il s'agit d'études pour lesquelles la stabilité de protéines n'a été prouvée que par une méthode biologique. Les molécules concernées sont la L-asparaginase (2 articles), l'interféron alpha (2 articles) et une étude portant sur deux anticorps monoclonaux, le cetuximab et le panitumumab.

Un exemple de formulaire d'évaluation complété figure en annexe 16.

Aucun article portant sur une molécule « classique » n'a été coté en E.

II.3.6 Cotation en « joker »

Le « joker » a été utilisé pour 6 publications (3%).

Pour rappel, nous avons attribué un « joker » au lieu des niveaux de preuve habituels lorsque plusieurs molécules étaient évaluées dans une même publication mais avec une méthode plus ou moins bien validée ou des résultats différents. Nous avons coté chaque molécule individuellement mais nous ne voulions pas indiquer 2 voire 3 notes dans le même écran sur Stabilis® pour des questions de lisibilité.

Les 6 jokers attribués correspondent à

- 2 études de stabilité de 2 molécules cotées individuellement en A et B
- 2 études de stabilité de 2 molécules cotées individuellement en A+ et B+
- 2 études de stabilité de 2 molécules cotées individuellement en C et D.

La figure 44 montre l'écran de saisie d'une de ces publications.

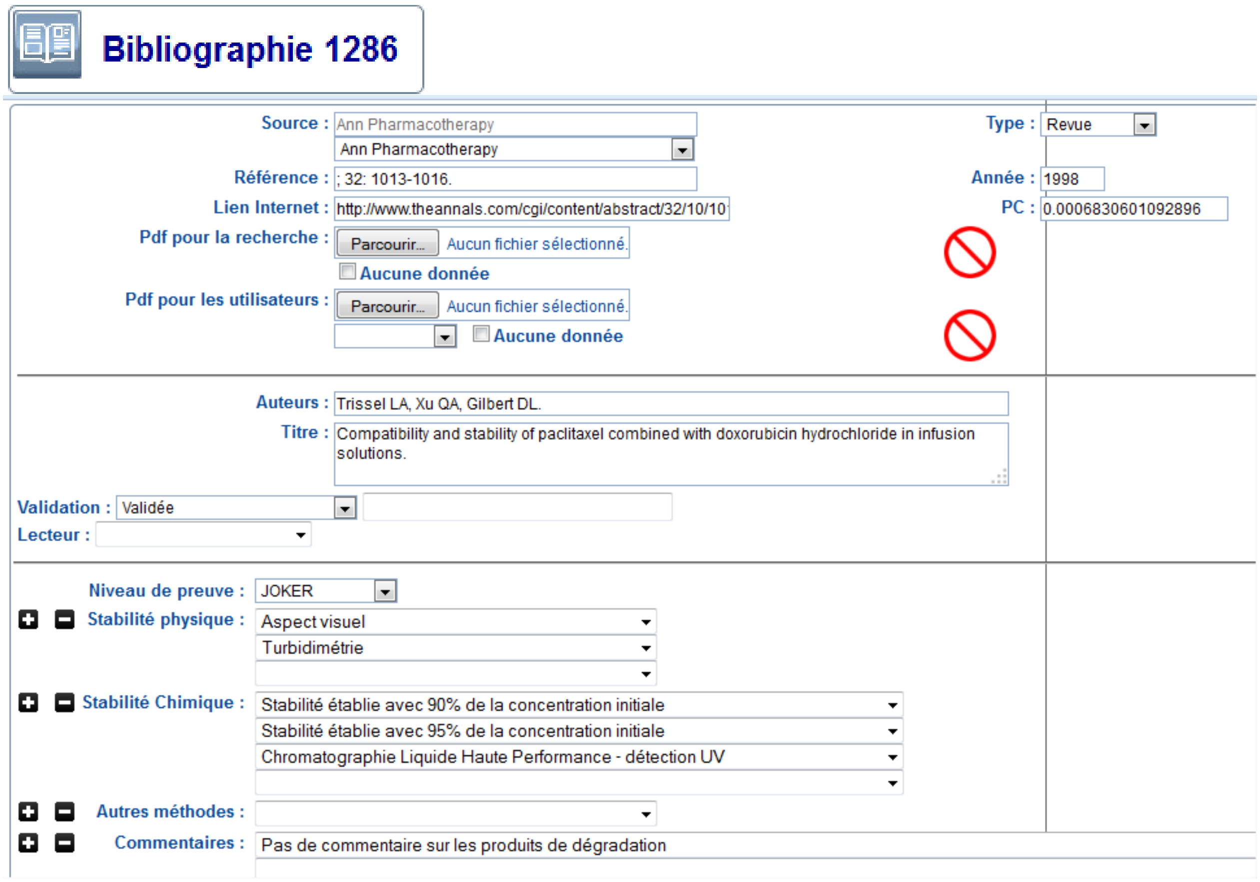


Figure 44 : Aperçu de l'écran de saisie d'une publication cotée "joker"

L'écran de saisie n'étant visualisé que par les administrateurs et non les utilisateurs de la base de données, il n'est pas nécessaire de préciser ici le détail du niveau de preuve attribué pour chaque

molécule d'un même article coté « joker ». Cette information sera en revanche disponible sur l'écran de visualisation pour les utilisateurs.

Un exemple de formulaire d'évaluation complété figure en annexe 17.

II.3.7 Articles en attente de cotation

Neuf publications sont pour le moment en attente. Il s'agit des « perdus de vue ». Pour des raisons inconnues, nous n'avons pas retrouvé ces articles dans les archives bibliographiques de la base de données. Nous les recherchons actuellement afin d'y remédier.

II.3.8 Système de cotation simplifié

Pour simplifier le système de cotation nous avons :

- Regrouper les A et A+ en un seul niveau A
- Regrouper les B et B+ en un seul niveau B
- Regrouper les C et C+ en un seul niveau C
- Regrouper les jokers selon le niveau de preuve de la molécule la plus faible. Nous avions 2 jokers en A+/B+, 2 en A/B, et 2 en C/D. Nous obtenons donc pour ce paragraphe 4 B et 2 D supplémentaires.

Ceci n'est destiné qu'à obtenir une vision globale et rapide mais ne remplace pas celui mis en ligne avec la totalité des niveaux de preuve utilisés précédemment. Nous obtenons la répartition simplifiée suivante.

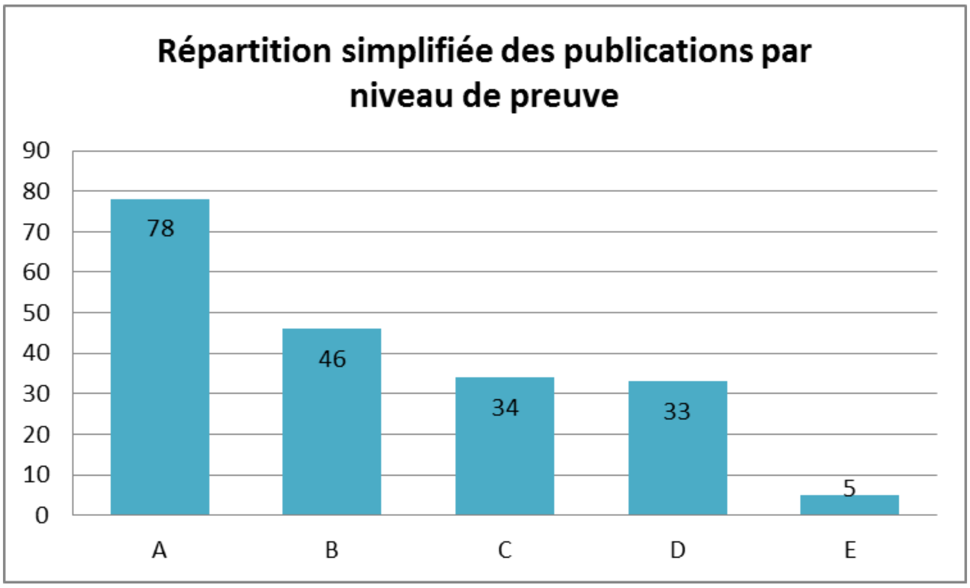


Figure 45 : Répartition simplifiée par niveau de preuve

II.4 Répartition des articles ayant établi la stabilité avec 90 et 95% de la concentration initiale

Après avoir effectué la cotation de tous les articles, nous nous sommes demandés dans combien d'entre eux la stabilité était établie avec 95% de la concentration initiale comme le préconise les recommandations, pour le cas des molécules classiques. Nous avons donc repris le détail des cotations de chaque niveau de preuve.

Les niveaux de preuve A, A+, C et C+ correspondent toutes à des études où la stabilité était établie avec 95% de la concentration initiale. Les B+ caractérisent tous des articles où la stabilité était établie avec 90% de la concentration initiale. Seuls les niveaux de preuve B et D peuvent contenir des publications ayant établi la stabilité avec 90 et 95% de la concentration initiale.

Pour ce paragraphe, nous ne cotons pas les « jokers ». Nous excluons également les 2 articles cotés D sans résultats chiffrés et les E qui sont tous des études de stabilité de protéines basés uniquement sur une étude biologique.

La répartition des 170 articles restants par niveau de preuve est présentée en figure 46.

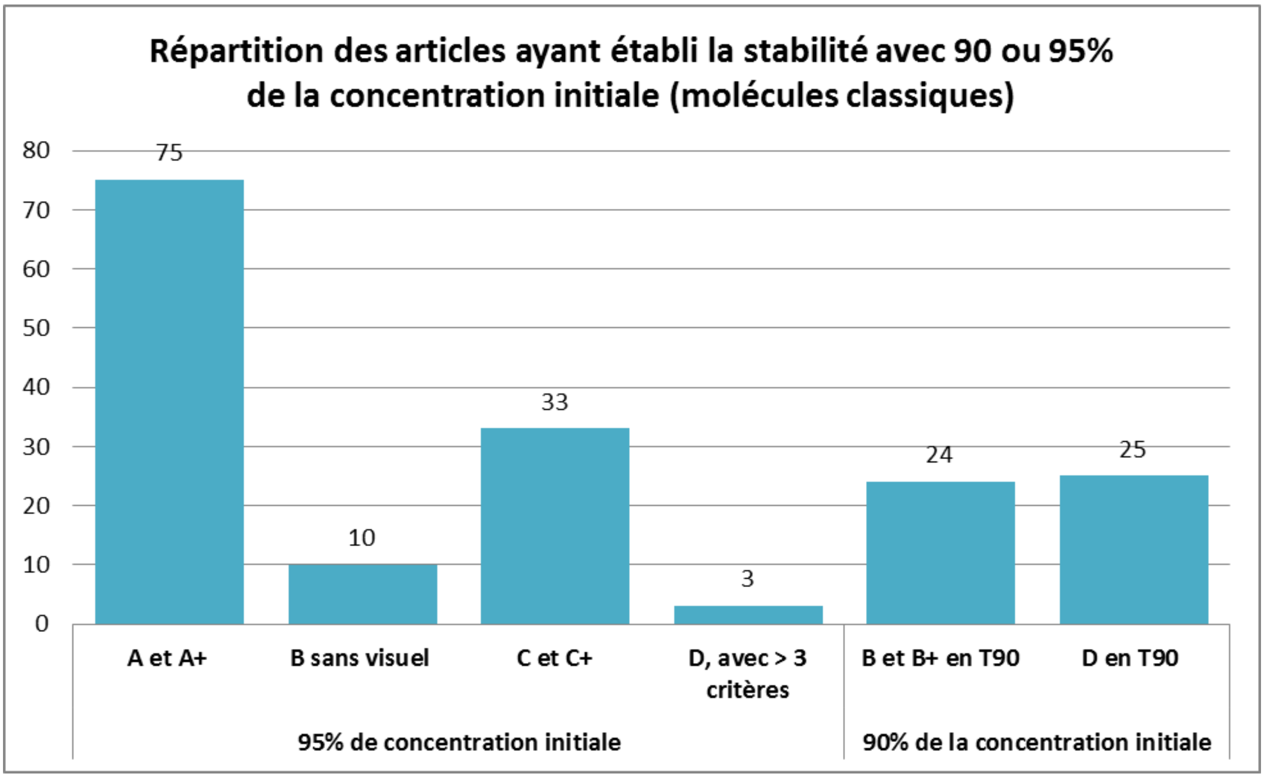


Figure 46 : Répartition des articles avec 90 ou 95% de la concentration initiale et par niveau de preuve

Au total, 121 articles ont établi la stabilité avec 95% de la concentration initiale (71%), donc la grande majorité des articles respectent la recommandation de la conférence de consensus européenne sur cet aspect.

II.5 Répartition par cotation par revue

Pour la suite de notre travail, nous avons souhaité connaître la répartition des différents niveaux de preuve en fonction de la revue dans laquelle les publications paraissent. Pour cela nous avons utilisé la répartition simplifiée en A, B, C, D, E.

La répartition des différents niveaux de preuve pour les principales revues dans lesquelles on trouve des études de stabilité est donnée à la figure 47.

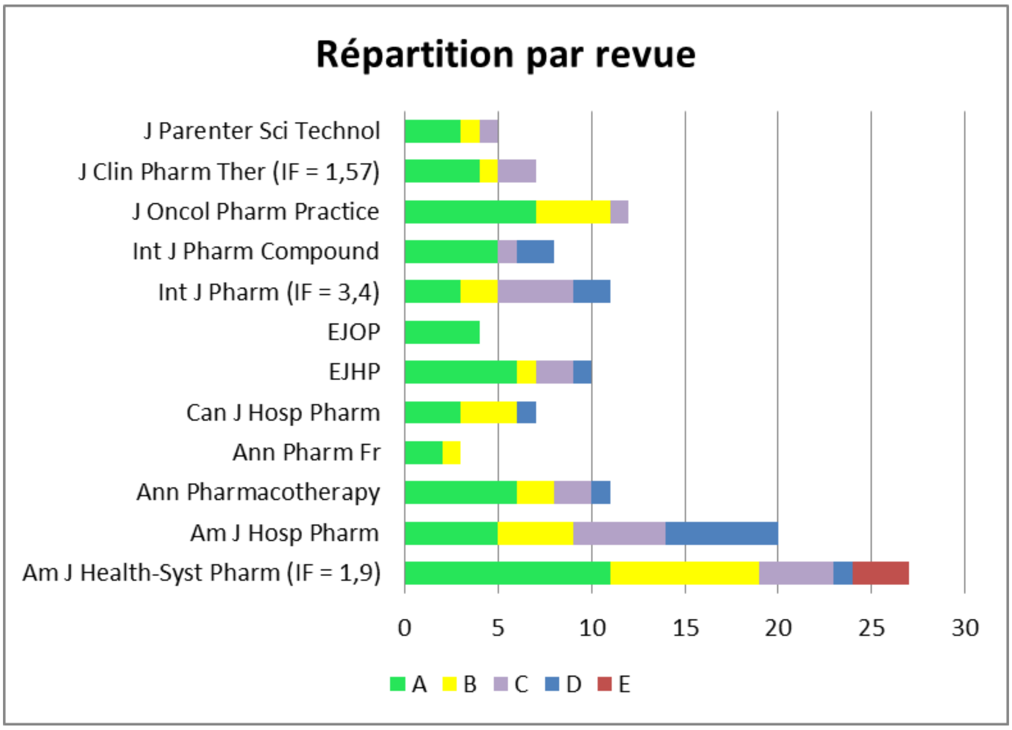


Figure 47 : Répartition des niveaux de preuve des articles cotés selon la revue scientifique

Lorsque l'Impact Factor (IF) est disponible pour une revue, celui-ci est précisé entre parenthèses dans la figure ci-dessus. Pour les revues internationales publiant régulièrement des études de stabilité, nous trouvons une grande majorité d'articles en A ou B. Il est toutefois impossible de montrer des différences significatives.

II.6 Evolution au cours du temps

Comme nous avions relevé l'année de parution de chaque article, nous avons souhaité avoir un aperçu de l'évolution de la qualité des études de stabilité au cours du temps, notamment en comparant l'avant et l'après-publication des recommandations de la conférence de consensus européenne. Les diagrammes obtenus sont présentés en figures 48 et 49.

Nous avons pris en compte tous les articles cotés hormis les « joker ». Nous sommes remontés à l'année 2000. Il reste ainsi 70 articles entre 2000 et 2011 et 20 articles après 2011.

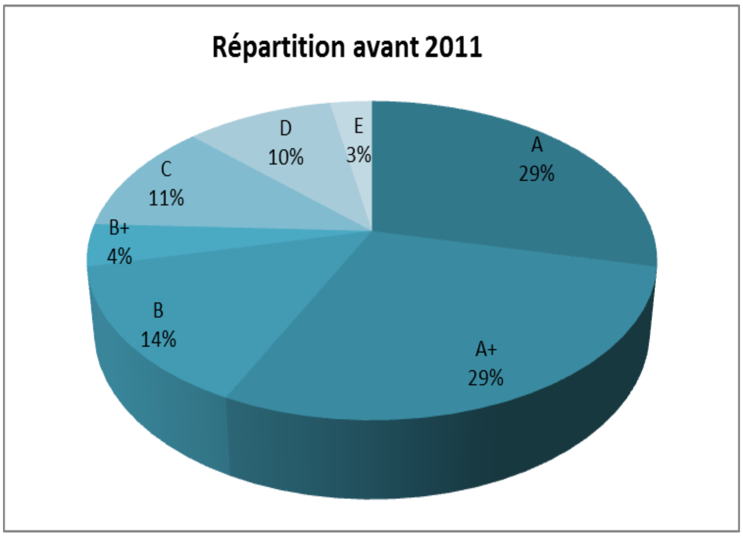


Figure 48 : Répartition des publications par niveau de preuve entre 2000 et 2011

Entre 2000 et 2011, les articles avec un bon niveau de preuve, c'est-à-dire cotés en A+, A, B+ et B, représentent 76% des études de stabilité.

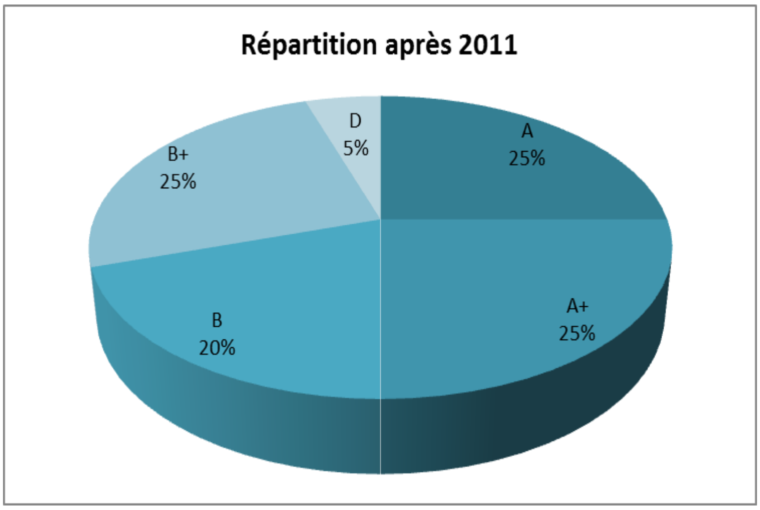


Figure 49 : Répartition des publications par niveau de preuve après 2011

Après 2011, 95% des publications sont cotées en A+, A, B+ ou B, donc avec un bon niveau de preuve. Seulement 5% des articles obtiennent un faible niveau de preuve (D) tandis que 24% des études menées avant 2011 obtenaient un niveau de preuve inférieur ou égal à C.

II.7 Principaux commentaires saisis

Les 25 commentaires créés permettant de préciser ou justifier la cotation ont été saisis au fur et à mesure de ce travail et sont présentés aux figures 50 et 51. Les commentaires les plus utilisés sont ceux correspondant aux critères de décote en C ou D et sont encadrés en rouge sur ces deux figures.

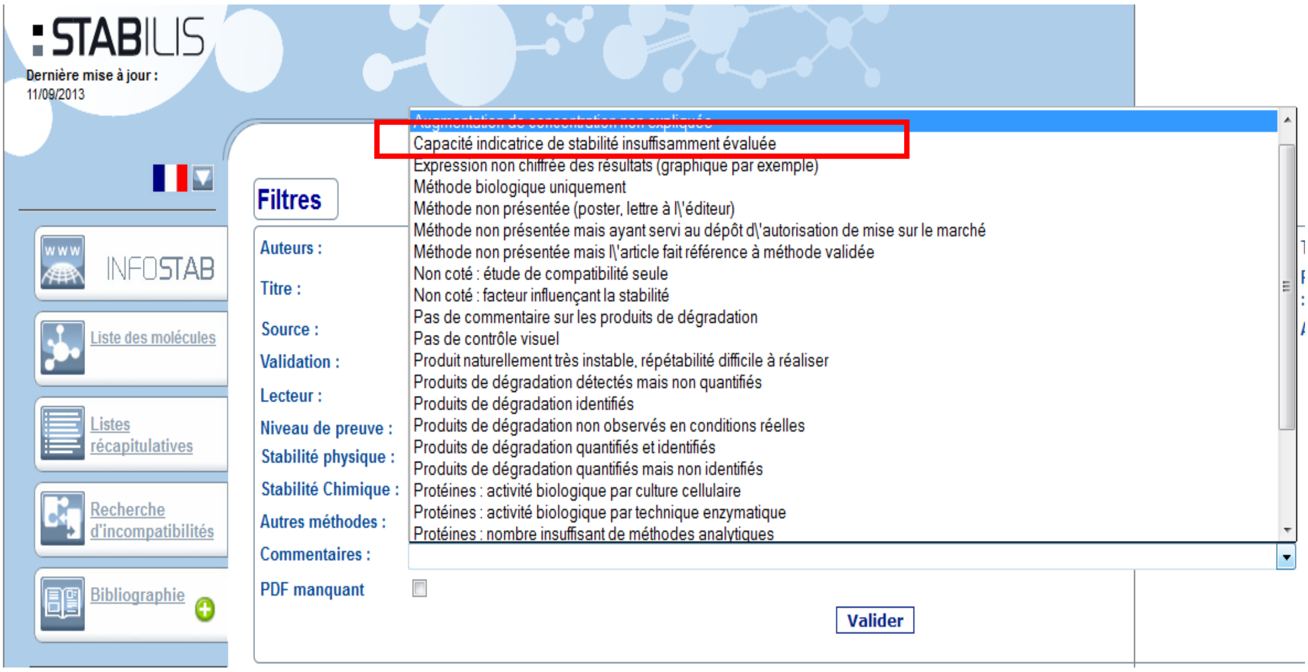


Figure 50 : Aperçu des commentaires justifiant la cotation sur Stabilis® (1/2)

.

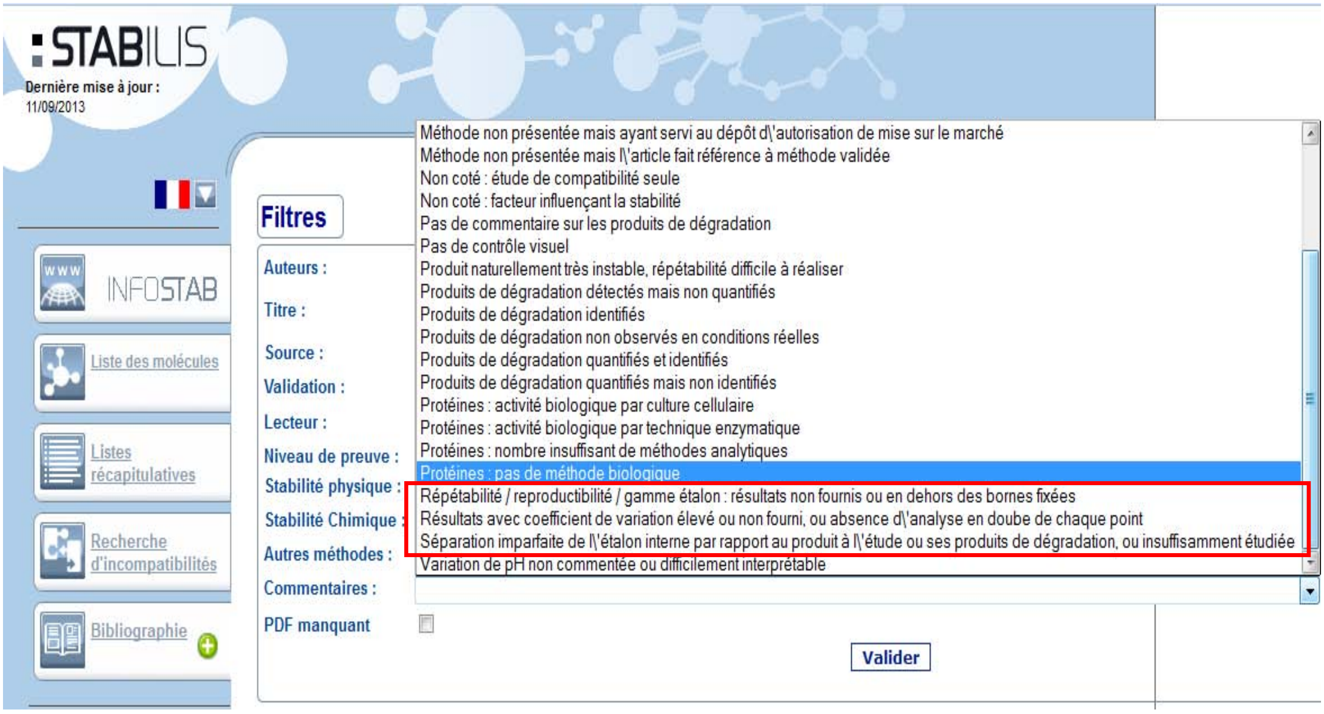


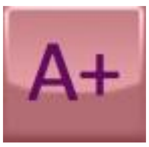
Figure 51 : Aperçu des commentaires justifiant la cotation sur Stabilis® (2/2)

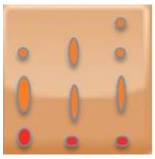
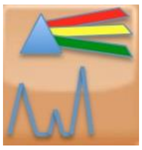
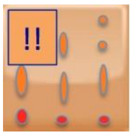
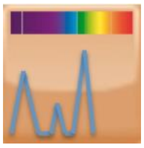
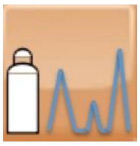
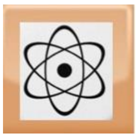
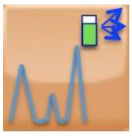
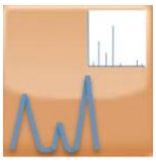
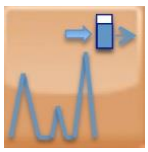
II.8 Ecrans de visualisation pour les utilisateurs de Stabilis®

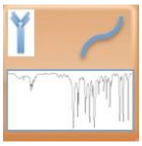
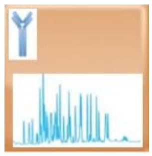
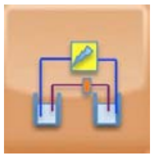
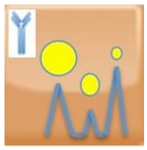
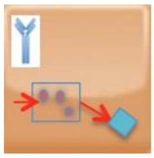
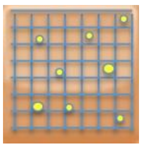
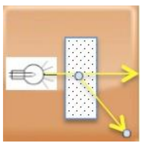
Grâce au travail en collaboration avec un informaticien, nous avons ensuite créé 42 pictogrammes et les écrans de visualisation auxquels auront accès les utilisateurs de Stabilis®, à chaque recherche impliquant un médicament anticancéreux.

Les pictogrammes créés sont présentés dans le tableau XIII.

Tableau XIII : Pictogrammes créés pour le système de cotation

Rubrique	Pictogrammes	Traductions	Pictogrammes	Traductions
Niveaux de preuve		Niveau de preuve A		Niveau de preuve C+
		Niveau de preuve A+		Niveau de preuve D
		Niveau de preuve B		Niveau de preuve E

		Niveau de preuve B+		Laboratoire
		Niveau de preuve C		Joker
Stabilité chimique - molécules classiques		Chromatographie sur couche mince		Chromatographie Liquide Haute Performance - détecteur évaporatif à diffusion de lumière
		Chromatographie sur couche mince à haute performance		Chromatographie Liquide Haute Performance - détection DAD
		Chromatographie en phase gazeuse		Chromatographie Liquide Haute Performance - détection électrochimie
		Résonnance magnétique nucléaire		Chromatographie Liquide Haute Performance - détection fluorescence
		Stabilité établie avec 90% de la concentration initiale		Chromatographie Liquide Haute Performance - détection masse
		Stabilité établie avec 95% de la concentration initiale		Chromatographie Liquide Haute Performance - détection UV

Stabilité chimique - Protéines		Protéines : spectrométrie IR et dérivée seconde		Protéines : cartographie peptidique
		Protéines : spectrométrie UV et dérivée seconde		Protéines : chromatographie ionique
		Protéines : spectrométrie UV		Protéines : électrophorèse capillaire
Stabilité physique		Aspect visuel		Protéines - Chromatographie d'exclusion sur gel
		Examen microscopique		Protéines - Diffusion dynamique de la lumière
		Comptage particulaire		Protéines : courbe d'agrégation thermique
		Turbidimétrie		
Autres méthodes		Bilan massique		Recherche de contaminant (DEHP…)
		Mesure de l'osmolalité		Protéines : ultracentrifugation
		Mesure du pH		Perte d'eau par évaporation

		Protéines : activité biologique		

Sur l'écran principal de la monographie de chaque molécule, à côté du lien vers la référence bibliographique d'où provient la donnée de stabilité, se trouvera le niveau de preuve attribué à cet article particulier comme le montre le flèche rouge sur la figure 52.

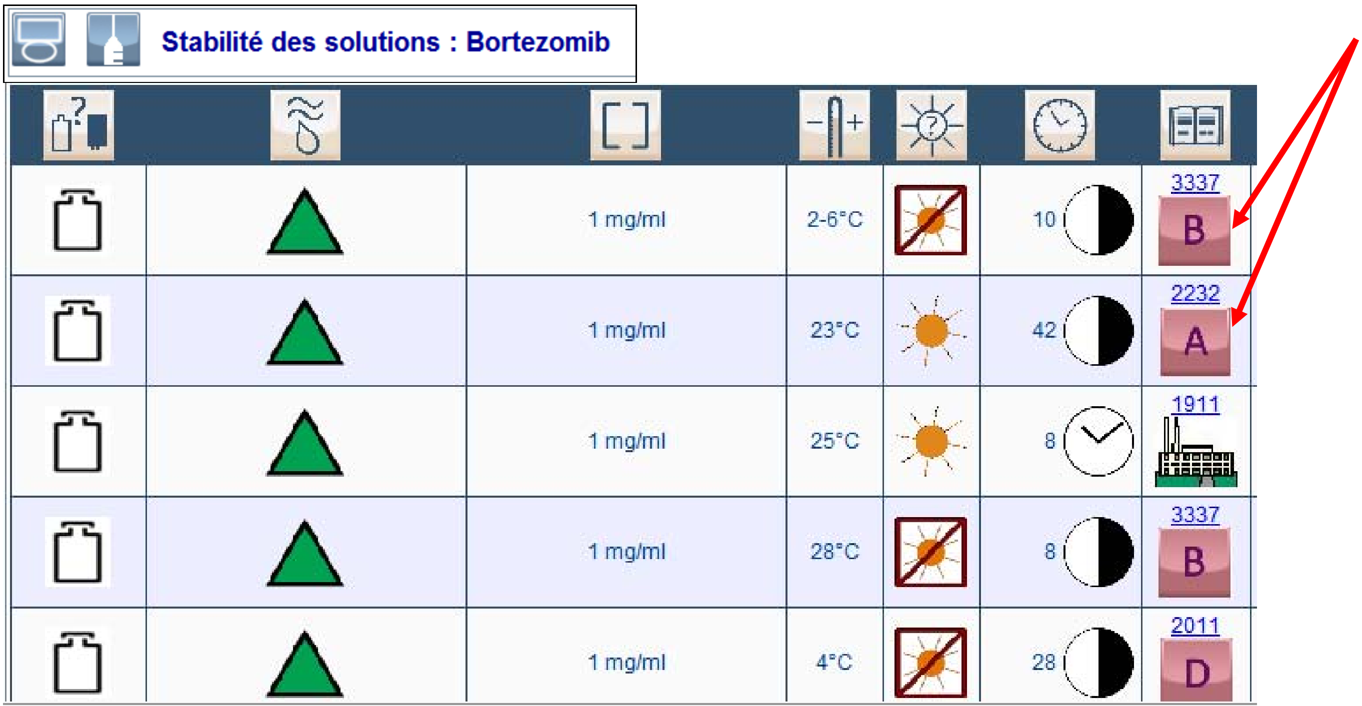


Figure 52 : Aperçu de l'écran indiquant le niveau de preuve pour chaque référence bibliographique

Pour les administrateurs, l'écran de visualisation est accessible par le pictogramme en forme de télévision sur chaque écran de saisie (cf. figure 53).

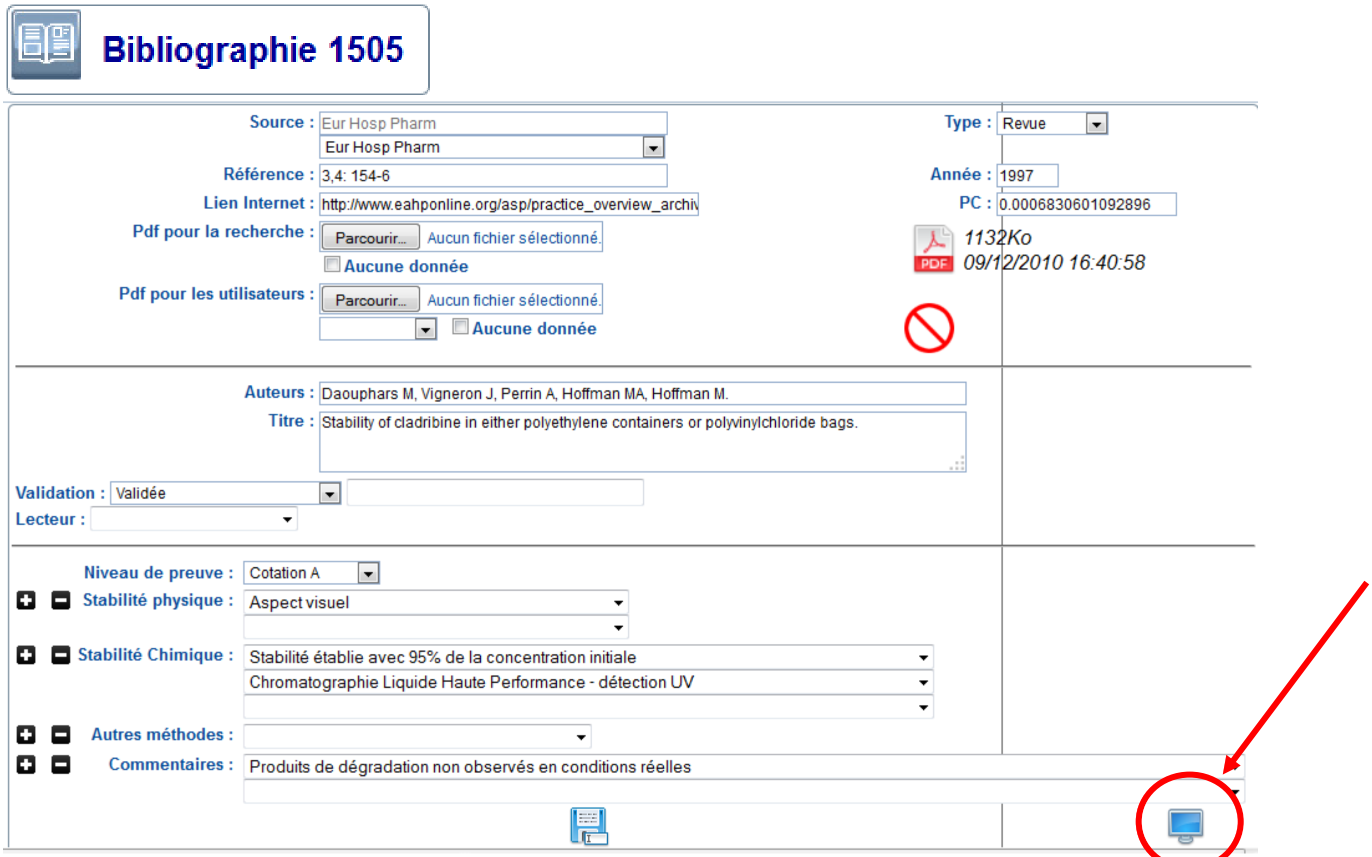


Figure 53 : Aperçu de l'accessibilité à l'écran de visualisation pour les administrateurs.

Pour les utilisateurs de Stabilis®, en cliquant sur la lettre correspondant au niveau de preuve, l'écran de visualisation s'ouvrira et résumera les éléments figurant dans les écrans de saisies de notre système de cotation. Les figures 54 et 55 représentent deux exemples provisoires d'écran de visualisation pour le cas d'une molécule classique et pour le cas d'une protéine.

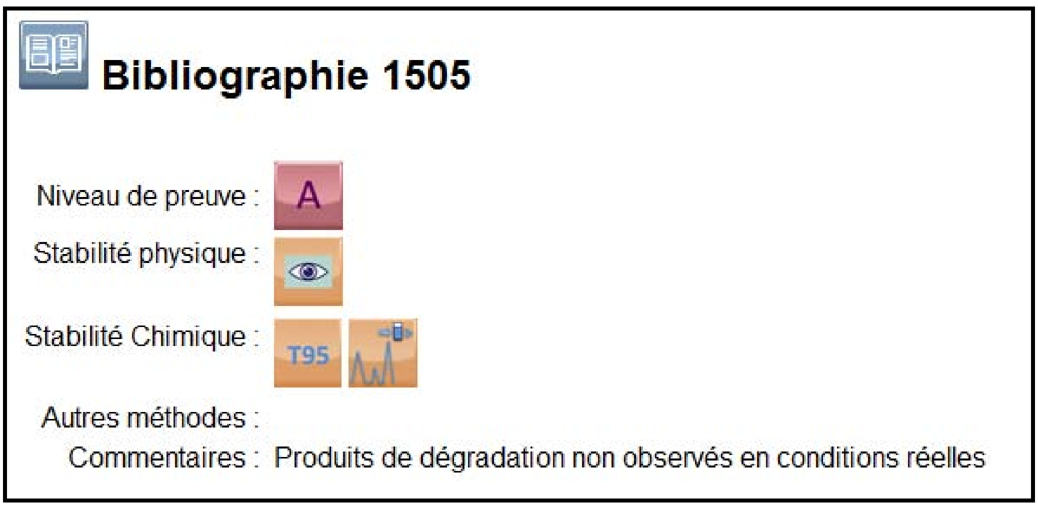


Figure 54 : Ecran de visualisation pour le cas d'une molécule classique

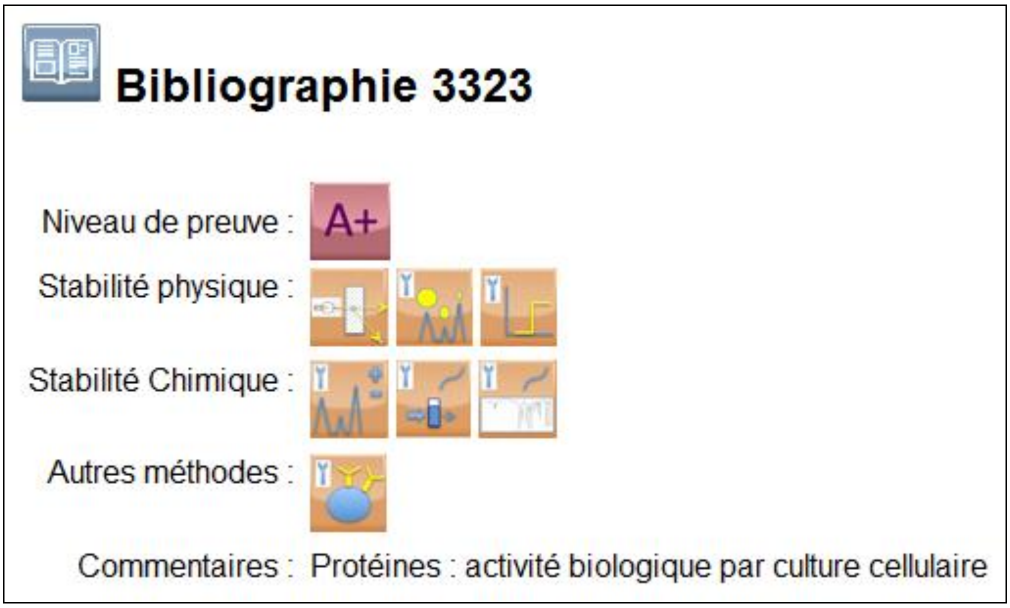


Figure 55 : Ecran de visualisation pour le cas d'une étude de protéine

Nous pouvons voir sur ces deux exemples provisoires que toutes les informations entrées par les administrateurs dans les écrans de saisie, sont disponibles sur les écrans de visualisation, essentiellement sous forme de pictogrammes pour respecter l'esprit de Stabilis®. Les commentaires standardisés sont les seules informations présentées sous forme de texte.

II.9 Nombre d'équipes répertoriées en Europe

La liste des 38 équipes les plus impliquées dans les études de stabilité d'anticancéreux en Europe figure en annexe 18. Elles ne sont pas présentées dans un ordre particulier d'importance. Grâce à ce fichier qui sera mis en ligne sur Stabilis®, nous voyons que la France compte le plus d'équipes, 13 selon notre base. En termes de nombre de publications, les équipes de l'Hôpital Henri Mondor à Paris, de Montpellier, Nancy, Lille et Clermont-Ferrand sont les plus impliquées. L'équipe du Professeur ASTIER de l'Hôpital Henri Mondor a notamment réalisé la quasi-totalité des études de stabilité des protéines.

A l'étranger, les équipes de Mayence (KRÄMER), d'Amsterdam (BEIJNEN), d'Exeter (SEWELL), et d'Yvoir (HECQ) réalisent également de très nombreuses études de stabilité ou de compatibilité.

Comme nous nous sommes limités aux équipes européennes, nous n'avons pas listé certains groupes de travail américains ou canadiens comme ceux de TRISSEL ou de WALKER.

III Discussion

Pour les pharmaciens hospitaliers mais également d'autres professionnels de santé comme les infirmières, il est primordial de disposer de données de stabilité afin d'optimiser les ressources humaines, logistiques, financières et le confort du patient. Pour éviter à ces professionnels de santé de rechercher ces données dans les très nombreuses revues scientifiques, plusieurs bases de données existent dont la base de données européenne Stabilis®. La grande majorité des informations disponibles sur le site www.stabilis.org est présentée sous forme de pictogrammes afin de dépasser autant que possible la barrière de la langue. Les données de stabilité et de compatibilité physico-chimiques sont accompagnées de la référence bibliographique précisant les auteurs, la revue, voire même l'article au format PDF pour les plus récents. Toutefois pour un pharmacien n'ayant pas l'habitude de mener ou de lire des études de stabilité, il n'est pas toujours évident de juger la qualité de l'article et de la rigueur de la méthode et donc de la fiabilité des résultats. L'objectif principal de ce travail était d'élaborer un système de cotation et d'information des articles relatifs aux études de stabilité de médicaments anticancéreux alimentant la base de données européenne Stabilis®. Pour cela nous nous sommes fondés essentiellement sur les recommandations provenant notamment des ICH et de la conférence de consensus européenne tenue en mai 2010 sous l'égide de la SFPO [6, 23, 28, 36-45, 86].

III.1 Elaboration du système de cotation : des recommandations à la grille de cotation

A partir des recommandations citées ci-dessus, nous avons créé un formulaire d'évaluation des articles puis une grille de cotation pour le cas des molécules dites « classiques » et pour le cas des protéines en particulier les anticorps monoclonaux.

III.1.1 Gradation du système de cotation

Notre système de cotation repose sur 5 niveaux principaux de cotation, ou niveaux de preuve, échelonnés de A à E, et 3 niveaux secondaires A+, B+ et C+. Ce choix se justifie par la volonté de ne pas attribuer une note à un article. En effet les systèmes de cotation utilisés dans le domaine scientifique sont de plus en plus basés sur des lettres [107-109], tout comme dans le domaine éducatif [110-111]. Dans le domaine de la santé, l'exemple le plus connu est la gradation des recommandations fondée sur le niveau de preuve de la littérature par la Haute Autorité de Santé (HAS) en 3 niveaux [108]. Cet exemple est présenté en Annexe 19. Pour la plupart des systèmes de

cotation utilisant des lettres, le niveau de preuve est gradué de A à E. Dans le cas des études de stabilité, comme il n'existe pas à l'heure actuelle de système de cotation, pour aucune des 3 bases de données principales que sont Stabilis®, le *Trissel Handbook on Injectable Drugs* et le *King Guide to Parenteral Admixture,* nous ne pouvons donc comparer notre travail à une démarche similaire.

III.1.2 Choix des critères et niveau de preuve

Les guides officiels de recommandations établissent la liste des critères nécessaires à une bonne étude de stabilité. Par exemple, pour les molécules « classiques », les notions de validation de méthode, dont la preuve de sa capacité indicatrice de stabilité, et de qualité des résultats sont envisagées. Si tous ces critères étaient présents dans un article à analyser, nous avons estimé qu'il s'agissait du cas idéal d'où un niveau de preuve A.

Le niveau secondaire A+ correspond à la réalisation d'un examen subvisuel, vivement recommandé notamment par la Pharmacopée Européenne avec le test spécifique 2.9.19 [49] et qui représente donc un véritable apport. Nous aurions pu choisir d'attribuer un A uniquement si celui-ci était mené mais cela aurait entraîné un passage en niveau B, pour un trop grand nombre d'études, d'où ce choix de niveau secondaire. De même pour les protéines, la conférence de consensus européenne préconise un minimum de 3 méthodes séparatives pour la stabilité chimique (comme la CEX, la SEC ou la cartographie peptidique), 2 méthodes pour la stabilité physique et l'évaluation de l'activité biologique sont les critères nécessaires à l'évaluation complète de la stabilité. Nous les retrouvons dans le niveau A. La turbidimétrie et la diffusion dynamique de la lumière sont des méthodes physiques recommandées pour l'exploration de la stabilité physique de ces protéines. Il s'agit de méthodes subvisuelles puisque leurs principes respectifs sont de mesurer la densité optique des échantillons en se basant sur la déviation de la lumière dans le visible et l'UV proche pour déterminer la quantité d'agrégats, et d'évaluer la taille de la population d'agrégats contenant des agrégats entre 1 nm et 6 µm [83, 112] voire 10 µm [64]. Pour adopter le même schéma que les molécules « classiques », si une des méthodes physiques est une méthode subvisuelle, un A+ a été attribué.

En revanche, il existe de nombreux articles ne présentant pas tous ces critères mais qui apportent tout de même des informations importantes pour la pratique quotidienne dans une PUI. Nous devions donc définir des critères prioritaires et ceux qui entraînaient une décote plus importante.

Pour les molécules « classiques », nous avons classé par ordre décroissant de gravité les éléments rencontrés suivants :

- Une étude où la stabilité était établie avec une concentration finale de 90% de la concentration initiale, au lieu de 95% comme le préconise la conférence de consensus
- Une stabilité établie avec 95% de la concentration initiale mais avec une méthode partiellement validée ou des résultats présentant une trop grande variabilité
- Une stabilité établie avec 90% de la concentration initiale et une méthode partiellement validée et/ou des résultats présentant une trop grande variabilité

Nous avons donc attribué à ces 3 cas de figures les niveaux de preuve B, C et D respectivement. En effet, nous avons considéré que le fait d'utiliser une méthode partiellement validée, en particulier si la capacité indicatrice de stabilité n'est pas complètement démontrée, était plus délétère que des résultats avec 90% de la concentration initiale. Nous avons ensuite effectué quelques ajustements et défini le niveau de preuve E comme la mise en œuvre d'une méthode biologique uniquement. Les niveaux secondaires B+ et C+ ont été ajoutés pour la même raison que le A+, c'est-à-dire la réalisation d'un examen subvisuel.

Le même type de démarche a été appliqué pour le cas des protéines. Nous avons attribué un B pour le cas très fréquent d'étude de stabilité sans aspect biologique, puisque dans ce cas les méthodes physiques et chimiques sont largement décrites et donnent l'essentiel des informations déterminant la stabilité. Nous avons attribué un C et un D selon le nombre de méthodes employées, puis un E pour les études biologiques uniquement.

III.2 Choix des critères d'exclusion

Les articles concernant les études de compatibilités physicochimiques ainsi que les études des facteurs influençant la stabilité (pH, température, concentration, interaction contenant/contenu…) ont été exclus de notre travail.

Il ne s'agit pas d'un manque d'intérêt pour ces articles. Au contraire, certains d'entre eux apportent des notions fondamentales, comme les études décrivant le relargage de DEHP à partir de matériaux en PVC dans les préparations contenant du Taxol® [91-96]. Ces notions importantes doivent donc absolument figurer dans Stabilis®, mais ne peuvent toutefois pas entrer dans le cadre de notre travail.

Nous avons exclu ces études car il ne s'agit pas d'études de stabilité au sens strict et les méthodes employées sont souvent beaucoup moins complexes. En effet, lorsque le but de l'auteur est de démontrer une incompatibilité entre 2 molécules ou entre un médicament et un solvant, un simple examen visuel révélant l'apparition d'un précipité peut suffire. Par exemple, une étude de

Balthasar a mis en évidence l'incompatibilité concentration-dépendante entre l'héparine et la vinorelbine [113] par un examen visuel. La même justification est valable pour les études des paramètres influençant la stabilité, qui mettent également souvent en œuvre des méthodes plus simples.

Lors de la première lecture d'un article, avant qu'il soit entré dans la base de données par un administrateur, il arrive que des études dont le but était de démontrer la stabilité d'un médicament en mélange ou en fonction d'une certaine température de conservation aient été jugées d'emblée trop peu rigoureuses alors qu'elles apportaient une notion intéressante et nouvelle. Dans ce cas, cet article n'est pas entré dans la rubrique « Stabilité des Solutions » ou dans « Stabilité en mélange » mais dans la rubrique « Facteurs influençant la stabilité ». C'est par exemple le cas de l'étude menée par Dorr *et al*. dont le but était d'établir la compatibilité de la mitomycine C avec l'héparine et des corticoïdes [114]. La méthode présentée n'était pas validée, mais les auteurs démontraient tout de même que la mitomycine se dégrade en fonction du pH et de la température. Seules ces deux informations avaient donc été retenues pour la rubrique « Facteurs influençant la stabilité ».

Nous sommes donc en présence de deux cas de figure différents qu'il est nécessaire de bien distinguer :

- l'incompatibilité est démontrée par un examen visuel : l'article est saisi dans la rubrique « Facteurs influençant la stabilité ». Il est exclu de notre travail et le commentaire « Non coté : facteurs influençant la stabilité » apparaît sur sa fiche descriptive dans Stabilis®
- les auteurs n'ont utilisé qu'un examen visuel alors que leur but était de prouver une éventuelle stabilité en mélange. Si la conclusion correspond à une incompatibilité, nous retombons sur le cas précédent, l'article est exclu. En revanche si la conclusion de l'article est une compatibilité, l'article est d'emblée refusé et n'apparaît pas dans la base. Ceci peut constituer un biais et sous-évaluer le nombre d'études mal menées, puisque pour pouvoir conclure à la stabilité en mélange, les auteurs auraient dû analyser la stabilité chimique de chaque molécule présente dans le mélange.

III.3 Cas particuliers rencontrés lors de la cotation

III.3.1 Importance de la capacité indicatrice de stabilité d'une méthode chromatographique

Comme nous l'avons expliqué précédemment, la capacité indicatrice de la méthode employée doit impérativement être démontrée. En effet, même pour une méthode par CLHP, pourtant décrite

comme sélective, il faut établir la preuve de sa capacité à séparer et quantifier un médicament des autres composants, en particulier de ses produits de dégradation. Lorsque cette démonstration est fondée sur une dégradation forcée, elle est souvent assez bien menée.

En revanche, dans certains articles, la capacité indicatrice de stabilité était peu ou pas décrite, ou mal évaluée. La dégradation forcée peut par exemple être poussée trop loin. Pour rappel, la conférence de consensus recommande une dégradation forcée de l'ordre de 20% à 30% [28]. Dans l'étude de Stolk sur la stabilité de la mitomycine C, une dégradation par la chaleur a été étudiée : les échantillons ont été soumis à la vapeur d'eau à 100°C pendant 30 minutes et une heure [115]. Dans ces conditions, les auteurs ont mis en évidence une diminution de la concentration de la mitomycine C de 24 et 58%, cette dégradation par la chaleur est trop importante. Le but de la dégradation forcée est d'observer et d'identifier les produits de dégradation qui pourraient se former dans les conditions réelles. Une dégradation trop poussée risque de faire apparaître des PD jamais formés dans les échantillons comme des PD secondaires voire tertiaires. D'autre part, les auteurs notent cette diminution importante de concentration sans pour autant rechercher et trouver des PD. Si cette recherche a été effectuée, elle devrait être présentée dans la publication, idéalement avec un chromatogramme afin de prouver la capacité indicatrice de stabilité. Même si la dégradation forcée a été abordée ici, elle n'est donc pas correctement réalisée et la méthode ne peut être considérée comme totalement validée d'où l'importance de la rigueur de la méthode mais aussi de la rédaction de la publication.

Dans certains cas, la dégradation forcée n'est pas indispensable. C'est par exemple le cas lorsqu'un auteur utilise la méthode de la monographie Pharmacopée quand celle-ci est disponible. On juge alors que cette méthode est validée.

Certaines techniques comme la RMN ou la SM permettent d'obtenir des renseignements supplémentaires par rapport à la CLHP, notamment sur la structure chimique des entités présentes en solution. Bologenese *et al.* ont mené une étude de stabilité du bortezomib par RMN et par CLHP-UV [116]. Devant la présence de ces 2 techniques qui ont permis l'analyse poussée de 2 PD, nous nous attendions à trouver un niveau de preuve élevé. Nous l'avons pourtant finalement coté en niveau D. En effet, dans cet article les auteurs précisent que les échantillons ont été injectés en triple, pourtant aucune notion de répétabilité/reproductibilité n'est fournie, la méthode ne peut être considérée comme totalement validée. De plus, l'unique résultat pour la stabilité dans cet article correspond à l'affirmation suivante : « l'absence de différence entre l'étape initiale et l'étape finale» mais aucun résultat chiffré n'est présenté. La démonstration de la capacité indicatrice de stabilité est

donc importante mais ne suffit pas pour faire un bon article et un système de cotation ne peut donc reposer que sur ce seul critère.

III.3.2 Méthodes employant un étalon interne

Dans le cas particulier des études de stabilité utilisant un étalon interne (EI), la vigilance des auteurs est encore plus nécessaire. En effet pour démontrer la capacité indicatrice de stabilité d'une méthode où la quantification est faite par normalisation ou par étalonnage externe, il suffit de prouver que la méthode permet de distinguer le médicament à l'étude de ses PD. Lorsqu'un EI est utilisé, il est présent en solution avec le médicament et ses éventuels DP. Il convient alors d'établir la preuve que lors de la dégradation forcée, un PD n'est pas masqué par l'EI qui serait élué au même temps de rétention. Il faudrait donc réaliser la dégradation forcée sans l'étalon interne pour relever les temps de rétention des PD et utiliser un étalon élué avec une résolution suffisante. Cette étape n'est pas toujours réalisée dans les méthodes avec EI analysées. Les articles présentant cette limite étaient donc cotés C ou D avec le commentaire "*Séparation de l'étalon interne par rapport au produit à l'étude ou ses produits de dégradation imparfaite, ou insuffisamment étudiée*" [115].

D'autre part, l'EI employé doit théoriquement fournir un signal d'une intensité du même ordre que la molécule étudiée, et ce afin d'augmenter la précision. Quebbeman *et al.* ont mené une étude sur la stabilité du 5-fluorouracile pour laquelle un étalon interne (le 5-bromouracile) a été employé. Sur le chromatogramme présenté par les auteurs, le 5-bromouracile et le 5-fluorouracile ne sont pas du tout dans les mêmes proportions ce qui peut entraîner une diminution de la précision de la méthode. D'ailleurs, le coefficient de corrélation obtenu n'est que de 0,93 et les notions de répétabilité et reproductibilité ne sont pas abordées [117].

Les méthodes avec EI peuvent bien-sûr tout de même être employées, mais notre travail révèle l'importance de leurs limites et donc la nécessité de les mener avec une grande prudence.

III.3.3 Importance de la stabilité physique

Comme nous l'avons expliqué précédemment, la stabilité physique doit être prouvée, cela passe le plus souvent par un examen visuel. Lorsqu'un examen subvisuel est pratiqué, il s'agit de turbidimétrie, de comptage particulaire ou de microscopie.

L'étude de stabilité de Zhang *et al.* est un bon exemple pour révéler l'importance de ces examens [118]. Dans cet article relatif à la compatibilité et la stabilité de mélanges de paclitaxel avec du cisplatine ou du carboplatine, les auteurs ont établi une stabilité chimique qui peut atteindre 7 jours

mais une instabilité physique a été mise en évidence au bout de 24 heures par un examen visuel et subvisuel, ce qui limite donc l'utilisation à 24 heures maximum.

III.3.4 Cas des méthodes par chromatographie sur couche mince (CCM)

La CCM est une méthode séparative dont le principe même est de séparer les différents constituants d'un mélange. Elle est toutefois moins sélective et performante que la CLHP. A priori une méthode par CLHP devrait donc obtenir un meilleur niveau de preuve qu'une étude utilisant la CCM. Dans notre grille de cotation pour les molécules classiques, nous avons d'ailleurs prévu de coter la CCM en C si la stabilité est établie avec 95% de la concentration initiale et en D avec 90%. Deux études par CCM sont ainsi cotés en C [119-120].

L'étude de stabilité de Cradock *et al*. de la cytarabine, du methotrexate et de l'hydrocortisone utilisés par voie intrathécale a été conduite de la façon suivante : CLHP-UV pour l'hydrocortisone et CCM pour les 2 autres molécules [121]. La CCM présentée dans cet article est assez "artisanale", la quantification a en effet été réalisée par grattage puis centrifugation pour éliminer la silice. Le surnageant a ensuite été mélangé à de l'ammoniaque, filtré puis analysé par spectrophotométrie UV. La CLHP employée pour l'hydrocortisone, n'est pas totalement validée puisque la linéarité et la précision ne sont pas présentées. Les résultats obtenus par ces deux techniques ont permis d'établir une stabilité à 95% de la concentration initiale pour la CCM mais de seulement 90% pour la CLHP. Un « joker » a donc été attribué à cet article mais dans le sens inverse de celui auquel nous nous étions attendus au début de sa lecture puisque la CCM est coté en C mais la CLHP en D en raison de sa validation partielle et de la stabilité à 90%.

Cet article est donc un bon exemple de l'importance de notre travail puisqu'un lecteur non averti ne serait probablement pas parvenu à ce même niveau de preuve, et il convient donc de ne pas s'arrêter à la méthode utilisée, comme dans le cas de l'étude de Bolognese citée ci-dessus.

III.3.5 90 ou 95% de la concentration initiale ?

Nos résultats ont montré que pour 121 articles soit 71%, la stabilité était établie avec 95% de la concentration initiale.

Nous devons toutefois préciser deux éléments. Le premier point est que dans certaines publications, la définition de la stabilité citée était la suivante : *"Stability was defined as >90% remaining of the original drug concentration*", ces articles devraient donc être cotés B en raison d'une stabilité à 90%. Pourtant dans de nombreuses études reprenant cette définition, les résultats restaient supérieurs à 95% de la concentration initiale. Nous avons décidé de ne pas les pénaliser et

de leur attribuer un A à condition bien-sûr que la stabilité physique soit prouvée, comme c'est le cas pour l'étude du paclitaxel par Burm *et al*. [122].

Le deuxième point est que certains articles ont réellement établi une stabilité avec 90% de la concentration initiale. Mais parfois, suite à la première lecture de l'article, les données retenues et saisies dans Stabilis® correspondaient à une limite de 95%, même si cela entraînait une durée de stabilité plus courte que celle figurant dans la conclusion des auteurs. Les raisons de ce choix étaient l'importance pour le lecteur de respecter la limite de 95% recommandée en raison par exemple de l'administration destinée à la voie intrathecale ou encore l'idée sous-jacente de proposer du dose-banding. Dans ces cas, nous ne pouvions coter les données non présentées mais bien celles saisies dans la base de données. Ces publications ont donc été comptabilisées avec celles respectant réellement cette limite.

Dans ces 2 cas, peut-on vraiment dire que ces publications respectent la recommandation de la conférence de consensus ? Nous avons fait le choix de privilégier les résultats par rapport à la définition employée pour le premier cas et de privilégier les informations saisies plutôt que celles obtenues par les auteurs afin justement de retenir un maximum de données à 95% mais ce choix peut être discutable et peut constituer un léger biais pour cet aspect particulier.

III.3.6 Des chiffres et des lettres…

Parmi les 31 publications cotées A+, 28 étaient des molécules « classiques ». Dans ces 28 articles, 12 études ont été menées par l'équipe de TRISSEL et 6 par celle de SEWELL.

Douze articles ont obtenu un niveau B+, dont 8 concernent des protéines et 4 des molécules « classiques ». Pour mémoire, un niveau B correspond à deux cas pour les molécules classiques :

- les études avec 90% de la concentration initiale
- les études où la stabilité a été établie avec 95% de la concentration initiale sans examen visuel.

De même que pour le niveau secondaire A+ et comme nous l'avons expliqué plus haut, le niveau B+ a été créé pour les études où un examen subvisuel est pratiqué. Ce B+ devrait donc correspondre aux deux mêmes situations que celles justifiant un B, avec simplement l'examen subvisuel en complément. Pour le deuxième cas, il s'agirait donc d'études avec 95% de la concentration initiale, sans examen visuel mais avec un examen subvisuel. Or si ce dernier est réalisé, il est difficilement envisageable de considérer que l'examen visuel ne l'est pas. Même si cela n'est pas décrit dans l'article, nous sommes partis du principe qu'un auteur ne pourrait pas passer à côté d'un précipité ou d'un changement de couleur alors qu'il réalise un comptage particulaire, ou une méthode par

microscopie ou turbidimétrie ! La stabilité physique dans ce cas particulier a bien été envisagée, nous avons ainsi choisi de « surclasser » ces articles en A+. Les 4 études de molécules classiques cotées à ce niveau B+ sont donc des études avec 90% de la concentration initiale.

Lors de l'utilisation du système simplifié de cotation sans les niveaux secondaires, nos résultats ont révélé que plus le niveau de preuve est bas, plus le nombre d'articles diminue, ce qui est plutôt rassurant. Les niveaux A (78 articles) et B (46 articles) représentent en effet la très grande majorité des études de stabilité de molécules « classiques » avec ce système simplifié. Nous comptons toutefois 34 niveaux C et 33 niveaux D soit 77 articles qui ne respectent pas totalement les diverses recommandations.

Nous nous sommes ensuite intéressés à l'évolution dans le temps. Nous n'avons malheureusement pas pu établir de courbe de tendance du nombre de publications par niveau de preuve en fonction du temps, ce qui aurait été l'idéal. Ceci est dû au fait que selon les années, des nombres très différents d'études ont pu être menées et on ne retrouve pas tous les niveaux de preuve chaque année. Nous obtenions donc des courbes discontinues impossibles à exploiter. Nous avons tout de même voulu obtenir une estimation de l'impact des recommandations et notamment suite à la publication de celles de la conférence de consensus européenne tenue en mai 2010 et publiées en 2011. Pour cela, nous avons comparé la répartition des publications par niveau de preuve avant et après 2011. Nos résultats ont montré qu'après 2011, la proportion de publications avec un bon niveau de preuve au moins égal à un B a considérablement augmenté avec 95% des publications. Après 2011, une seule étude a obtenu un D.

Mais cette amélioration ne peut être totalement attribuée à la parution de ces recommandations, il faut préciser plusieurs biais. Tout d'abord, ces recommandations sont encore très récentes et un manque de recul semble évident. Ensuite, le nombre de publications retenues après 2011 est assez faible (20 articles). Et surtout, suite à ces recommandations, même si la qualité des publications a augmenté de façon indéniable, les critères de sélection des lecteurs sont devenus parallèlement plus sévères. Ainsi il est probable que des publications auxquelles nous aurions attribué un D aient été refusées d'emblée et ne soient pas saisies dans Stabilis®. Le nombre d'étude de moins bonne qualité est donc probablement sous-estimé. L'étude de l'impact de ces recommandations semble donc trop précoce.

III.3.7 D comme Différents cas de figure

Nous avons attribué un niveau D à 31 articles, soit 16% des articles cotés. Cependant, différents cas de figure peuvent justifier un tel niveau de preuve que l'on peut résumer ainsi : stabilité avec 95% de la concentration initiale et plus de 2 critères limitant, ou stabilité avec 90% de la concentration initiale et au moins un critère limitant parmi les suivants.

- Une variabilité des résultats
- Une capacité indicatrice de stabilité insuffisamment démontrée
- Une linéarité ou une précision non présentée ou en dehors des bornes fixées

De nombreux cas de figure peuvent ainsi expliquer une même note. Nous aurions pu nuancer par des D- ou D-- mais cela aurait considérablement diminué la lisibilité du système de cotation et nous n'avons pas envisagé cette solution. Il faut donc attirer l'attention sur le fait que toutes les publications cotées en D ne sont pas forcément d'une qualité strictement équivalente. Ainsi l'étude de Lieu *et al.* sur la stabilité de la vinorelbine a été cotée D pour plusieurs raisons [123] : une stabilité établie avec 90% de la concentration initiale, des CV intra-série et inter-série de 5% et 6%, dépassant les valeurs que nous avons fixées à 2% et 4% respectivement, et une variabilité des résultats (deux CV > 5% dont un à 8%). Cependant dans cette étude, la capacité indicatrice de stabilité est démontrée ce qui nous semble être primordial, la rédaction est de très bonne qualité, un examen visuel et de variation de pH ont été réalisés, et c'est justement le défaut dans la répétabilité qui peut expliquer la variabilité des résultats. Cette étude cotée D en raison d'un seul défaut de linéarité ou de répétabilité semble être plus rigoureuse que si plusieurs critères sont défaillants dans un seul article, en particulier si c'est la capacité indicatrice de stabilité qui représente le critère limitant.

III.3.8 Mais où sont les produits de dégradation ?

Lorsqu'une méthode est prouvée comme étant indicatrice de stabilité, elle peut par définition mettre en évidence et quantifier les PD formés au cours du temps. Dans le cas idéal d'une molécule stable dans le temps, le pourcentage de cette molécule n'a quasiment pas diminué et peut rester proche de 100% à la fin de l'étude. Si ce pourcentage se rapproche de 95 ou 90% selon les cas, cela peut s'expliquer par des phénomènes d'absorption ou d'adsorption ou par la formation de PD. Pourtant, au fur et à mesure de la lecture et de la cotation des articles, nous avions la forte impression que même lorsque la capacité indicatrice de stabilité était démontrée, il n'y avait que rarement des commentaires sur d'éventuels PD formés. Nous avons donc ajouté cet aspect dans les

commentaires standardisés, qui n'influent pas sur le niveau de preuve. Les commentaires saisis sont les suivants :

- ✓ Pas de commentaire sur les PD
- ✓ PD non observés en conditions réelles
- ✓ PD détectés mais non quantifiés
- ✓ PD quantifiés
- ✓ PD quantifiés et identifiés

Lorsqu'un PD est détecté, il n'est pas obligatoire de le quantifier et de l'identifier. Tout dépend des limites fixées par la Pharmacopée et l'ICH Q3B [42] (limite de détection, limite de quantification, limite de spécification), sur lesquelles nous ne reviendrons pas ici.

Le cas idéal correspond au deuxième commentaire « *produits de dégradation non observés en conditions réelles* », puisque les PD ne sont pas observés alors que les auteurs ont démontré que la méthode permettait de les détecter. Aucun PD ne s'est formé dans les échantillons, la molécule est stable. Ce commentaire a été saisi pour 44 études.

En revanche pour 81 articles, c'est le commentaire *« pas de commentaire sur les produits de dégradation* » qui est cité, ce qui représente une limite même pour de bons articles car la stabilité d'un médicament ne se résume pas à la concentration finale et la notion de PD devrait être systématiquement abordée. Pour certains auteurs, il semble peut être évident que si les PD ne sont pas commentés, c'est qu'ils ne sont pas détectés. Une simple phrase permet pourtant de l'écrire de façon certaine et éviter ainsi toute confusion comme celle fréquemment utilisée par l'équipe Lilloise : "*No additional peaks corresponding to degradation products was observed on the chromatograms*" [124].

Ce travail montre la trop grande fréquence de ce défaut dans des articles pourtant parfois très bien construits.

III.4 Un régime riche en protéines ?

Les médicaments issus des biotechnologies sont des produits de structure protéique et représentent une part de plus en plus importante sur le marché. Certains comme le Rituximab ont totalement révolutionné la prise en charge de pathologies cancéreuses ou auto-immunes [62-63]. Le nombre de publications relatives à leur stabilité devrait croître de façon significative.

Au total, seulement 18 publications relatives à des études de stabilité de protéines ont été cotées et la répartition est la suivante : 3 A+, 8 B+, 1 C, 1 D, et 5 E.

Les 3 A+ et 7 des 8 études cotées au niveau B+ sont toutes des publications de l'Hôpital Henri Mondor de l'AP-HP qui est sans aucun doute l'équipe de référence pour ce type d'étude. Les 3 études en A+ explorent tous les aspects de la stabilité des protéines. Il s'agit d'articles sur le rituximab et d'une étude sur la L-asparaginase [83, 103-104]. Pour les études sur le rituximab, dont la cible thérapeutique est le récepteur CD20 se trouvant sur les lymphocytes B, l'activité biologique a été démontrée par l'évaluation de l'activité cytotoxique du rituximab sur une population cellulaire surexprimant le CD20 [83]. Les 7 articles cotés B+ ne mettaient pas en œuvre de méthode biologique. La huitième publication cotée en B+ est une étude du pertuzumab et du trastuzumab, menée par Kwong Glower et al. [125] qui est donc la seule autre équipe à avoir travaillé sur une protéine en utilisant une méthode adéquate (ici avec turbidimétrie, SEC, CEX, cartographie peptidique et spectrophotométrie UV).

Dans les 18 publications, nous n'avons pas pris en compte les articles d'emblée refusés. Certaines études de stabilité de protéines ne pouvaient en effet pas être retenues sur Stabilis ®. C'est notamment le cas d'une étude pourtant publiée dans l'American Journal of Health-System Pharmacy [126] portant sur l'alemtuzumab, menée comme une étude de stabilité d'une molécule classique par CLHP. Un deuxième article paru dans ce même journal a étudié la stabilité du rituximab par une seule méthode de type ELISA avec une limite de stabilité fixée à 85% [127]. Suite à la parution de l'étude de stabilité de l'alemtuzumab, les auteurs de l'article sur le rituximab ont publié une lettre expliquant que l'approche classique par CLHP seule ne pouvait suffire pour étudier les protéines et soulignent une absence de recommandations concernant cette nouvelle classe thérapeutique [128]. Ces recommandations existent pourtant avec les ICH Q5C [43] et Q6B [45] et le paragraphe spécifique des protéines dans la conférence de consensus européenne [28].

Devant l'émergence de ces nouvelles thérapies, l'existence de recommandations et des publications de référence, le nombre d'études de stabilité portant sur les protéines devrait croître dans les années à venir et il conviendra de les étudier avec énormément d'attention. De plus, il s'avère que ce sont de très bonnes molécules pour la stabilité à long-terme. Par exemple, la stabilité du rituximab a été établie à 6 mois entre 2 et 8°C. Ces données sont d'autant plus indispensables pour les PUI que ce sont des produits extrêmement coûteux. La préparation à l'avance et le concept de dose-banding semblent donc particulièrement intéressants pour ce type de molécules et ne peuvent être envisagés que suite à des études de stabilité de haute qualité [23-24, 86].

III.5 Commentaires standardisés

Pour tous les cas particuliers rencontrés au cours de la cotation des 196 articles évalués, nous avons créé des commentaires standardisés qui permettent de justifier le niveau de preuve attribué. Les 25 commentaires peuvent être regroupés en 4 catégories.

Les commentaires relatifs aux protéines :

- Protéines : activité biologique par culture cellulaire
- Protéines : activité biologique par technique enzymatique
- Protéines : pas de méthode biologique
- Protéines : nombre insuffisant de méthodes analytiques

Les commentaires relatifs à la validation incomplète de la méthode :

- Capacité indicatrice de stabilité insuffisamment évaluée
- Méthode non présentée (poster, lettre à l'éditeur...)
- Méthode non présentée mais ayant servi au dépôt d'Autorisation de Mise sur le Marché
- Méthode non présentée mais référence à méthode validée
- Répétabilité / reproductibilité / gamme étalon : résultats non fournis ou en dehors des bornes fixées
- Séparation de l'étalon interne par rapport au produit à l'étude ou ses produits de dégradation imparfaite, ou insuffisamment étudiée

Les commentaires relatifs aux résultats :

- Expression non chiffrée des résultats (graphique par exemple)
- Résultats avec coefficient de variation élevé ou non fourni, ou absence d'analyse en double de chaque point

Les commentaires justifiant les critères d'exclusion :

- Non coté : étude de compatibilité seule
- Non coté : facteur influençant la stabilité

Les commentaires relatifs à l'étude des produits de dégradation :

- Pas de commentaire sur les produits de dégradation
- Produits de dégradation détectés mais non quantifiés
- Produits de dégradation identifiés

- Produits de dégradation non observés en conditions réelles
- Produits de dégradation quantifiés et identifiés
- Produits de dégradation quantifiés mais non identifiés

Les "autres" commentaires :

- Augmentation de concentration non expliquée
- Méthode biologique uniquement
- Pas de contrôle visuel
- Produit naturellement très instable, répétabilité difficile à réaliser
- Variation de pH non commentée ou difficilement interprétable

Pour la plupart des informations disponibles pour les utilisateurs sur les écrans de visualisation, nous avons respecté au maximum l'esprit de Stabilis® et créé des pictogrammes. Toutefois, pour ces commentaires, il est impossible de les résumer par un simple symbole. Ils sont donc saisis sous forme de texte qui sont en cours de traduction dans les 26 langues de la base.

Les commentaires ont été ajoutés dans le but de justifier la note attribuée mais également afin d'apporter une information complémentaire à l'utilisateur qui se demanderait la raison d'un bas niveau de preuve pour qu'il puisse se faire son propre jugement et décider s'il utilisera ou non la donnée de stabilité présentée.

III.6 Bases de données des équipes

L'objectif secondaire de notre travail était la création d'une base de données des équipes impliquées dans les études de stabilité en Europe. Celle-ci est en cours de conception, la première étape était la réalisation d'un fichier indiquant les coordonnées de chaque équipe, mais aussi les molécules étudiées et les méthodes employées. Elle sera ensuite mise en ligne grâce au travail en collaboration avec un informaticien.

La création de cette base constitue l'un des objectifs du groupe de travail « Stabilité » de la SFPO afin d'obtenir une cartographie des équipes impliquées. Son rôle précis reste à définir, elle permettra par exemple d'établir un réseau professionnel entre les équipes concernées afin de favoriser les échanges de compétences et de provoquer une dynamique pour entraîner la réalisation de nouvelles études. Elle pourra également aider un pharmacien hospitalier se lançant dans une étude de stabilité, à contacter des équipes ayant déjà travaillé sur une molécule particulière et d'obtenir d'éventuels conseils.

III.7 PA 2000 : 13 ans après…

Treize ans après le projet PA 2000 et la mise à disposition de la première version de Stabilis®, plusieurs évolutions ont vu le jour dont l'apparition du site internet www.stabilis.org en 2008 et l'ajout des molécules non injectables dans le projet PA 2012/2013. Notre projet, que nous avions intitulé PA 2014, constitue donc une nouvelle évolution très prochainement finalisée. Les écrans provisoires présentés dans ce document ne sont pour le moment visibles que par les administrateurs du site. L'étape ultime de notre travail est la traduction des commentaires standardisés dans les 26 langues disponibles sur Stabilis®. Une fois achevée, cette évolution sera accessible à tous les utilisateurs. Ceci est prévu pour le premier trimestre de l'année 2014 et nous respecterons ainsi les délais que nous nous étions fixés. La prochaine évolution (PA 2015) aboutira à la cotation de toutes les publications relatives à la stabilité des antibiotiques, deuxième classe très représentée, sur le même principe que les médicaments anticancéreux.

La création d'un système de cotation permettra donc d'accompagner toute donnée de stabilité d'un médicament anticancéreux injectable, de son niveau de preuve issu d'un long travail d'analyse. Les formulaires d'évaluation et grilles de cotation sont archivées avec chaque article au format papier. Dans un souhait de disposer d'un maximum de renseignements numérisés et harmonisés, nous avons également créé une fiche descriptive standard pour chaque article coté (cf. Annexe 20). Celle-ci reprend les critères essentiels du formulaire d'évaluation mais aussi de la grille d'analyse qui était utilisée jusqu'à présent pour la première lecture (cf. Annexe 21). Dorénavant, un seul document sera utilisé pour la lecture et la cotation de tous les articles relatifs à des études de stabilité de médicaments injectables, toutes classes pharmacologiques confondues. Il sera mis en ligne sur le site de Stabilis® et visible uniquement par les administrateurs.

Le niveau de preuve est une information essentielle mais qui ne doit pas être interprétée comme une consigne d'utilisation ou non. Chaque personne qui utilise une donnée trouvée sur Stabilis® engage sa propre responsabilité, il ne s'agit donc pas de se substituer au jugement des professionnels de santé. Ainsi, une étude a pu être cotée C ou D en raison de l'absence de certains critères que nous avons jugé essentiels mais nous devons préciser que la plupart des revues scientifiques imposent un format assez restreint pour les articles publiés, il est donc probable que certains éléments absents de la rédaction aient pourtant été étudiés par les auteurs. Si notre but avait été de donner une consigne de non-utilisation, nous aurions dans ce cas retiré de la base de données tous les articles cotés en D ou E. Or nous avons vu que toutes les publications cotées D n'étaient pas comparables, et bien qu'elles ne soient pas idéalement menées ou idéalement présentées, elles apportent parfois des données nouvelles qui méritent d'y porter attention.

D'autre part, le niveau de preuve n'est pas figé dans le temps. Si l'auteur d'une étude à laquelle nous avons attribué un niveau C ou D ne comprenait pas sa cotation, il est libre d'envoyer des informations complémentaires pour nous permettre de la réévaluer.

Enfin, le but est aussi une certaine forme d'encouragement. Nous avons vu en effet que même si la qualité des études de stabilité s'améliore progressivement, trop sont encore souvent incomplètes. Nous nous plaçons ainsi dans les lignées des actions visant à promouvoir les études de stabilité et de compatibilités des médicaments injectables, notamment celles de la SFPO.

Conclusion

L'objectif principal de ce travail était la création d'un système d'évaluation et de cotation des publications relatives aux études de stabilité de médicaments anticancéreux injectables alimentant la base de données européenne Stabilis®. L'objectif secondaire était la création d'une base de données secondaire des équipes impliquées dans ce type d'étude en Europe.

Nous avons proposé un système de cotation sur 5 niveaux de preuve de A à E, où A représente le niveau le plus élevé. Nous nous sommes fondés essentiellement sur les recommandations issues des ICH et de la conférence de consensus tenue en 2010 sous l'égide de la SFPO. Les critères retenus permettent de déterminer la qualité d'une étude et explorent notamment la stabilité physique (examen visuel et subvisuel) et la stabilité chimique (capacité indicatrice de stabilité, linéarité, précision, variabilité des résultats). Pour le cas des protéines, le nombre de méthodes employées pour la stabilité physique (turbidimétrie, diffusion dynamique de la lumière, chromatographie d'exclusion sur gel), pour la stabilité chimique (cartographie peptidique, spectrophotométrie UV et IR, chromatographie ionique) et l'évaluation de l'activité biologique constituent les critères principaux.

Le niveau de preuve attribué est désormais visible pour les administrateurs sur le site Stabilis® à côté du numéro de référence pour chaque article, et sera disponible pour tout utilisateur de la base de données au premier trimestre 2014. Un écran de visualisation fournit également des informations complémentaires importantes, résumées sous forme de pictogrammes, et des commentaires standardisés traduits dans les 26 langues de la base permettant de justifier ce niveau de preuve, comme par exemple l'étude des produits de dégradation, ou une validation incomplète de la méthode. La base de données secondaire est en cours de création et permettra d'établir un véritable réseau professionnel entre les équipes impliquées dans la stabilité des médicaments injectables et aussi de promouvoir la réalisation de nouvelles études. Notre travail a donc contribué à enrichir la base de données Stabilis® qui est en évolution permanente.

Tables des illustrations

Liste des figures

Liste des tableaux

Table des matières

Références bibliographiques

[1] Dictionnaire Larousse®. Définition de la stabilité. Page consultée le 13 avril 2013.
http://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/stabilit%C3%A9/74408.

[2] Groupe d'Evaluation et de Recherche sur la Protection en Atmosphère Contrôlée Isotechnie et Pharmacie Hospitalière - Application aux anticancéreux. Le référentiel du Gerpac. Coordination Gard C, Cazin JC, Arnaud P, Septembre 2006, 225p.

[3] Duriez A, Vigneron J, Zenier H, May I, Demoré B. Stability of Azacitidine Suspensions. Ann Pharmacotherapy. 2011 ; 45:546.

[4] Cheung YW, Vishnuvajjala BR, Morris NL, Flora KP. Stability of azacitidine in infusion fluids.
Am J Hosp Pharm 1984 ; 41: 1156-1159.

[5] Den Hartigh J, Brandenburg HCR, Vermeij P. Stability of azacitidine in lactated Ringer's injection frozen in polypropylene syringes. Am J Hosp Pharm 1989 ; 46: 2500-2505.

[6] International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use, Stability testing of new drug substances and products – ICH Q1A(R2)
Step 4, February 2003.

[7] Dictionnaire Vidal®. Résumé des caractéristiques du produit Vidaza ®. 89ème éd. Paris, 2013, p2527.

[8) Paul M, Vieillard V, Roumi E, Cauvin A, Despiau M.C, Laurent M, Astier A. Long-term stability of bevacizumab repackaged in 1 mL polypropylene syringes for intravitreal administration. Ann Pharm Fr. 2012 ; 70, 3: 139-154.

[9] Ministère de la Santé, de la Jeunesse et des Sports – Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé. Bonnes Pratiques de Préparation. Bulletin Officiel 2007/7bis.

[10] Pujol M, Munoz M, Prat J, Giona V, De Bolos J. Stability study of epirubicin in NaCl 0.9% injection. Ann Pharmacotherapy. 1997 ; 31: 992-995.

[11] Adams PS, Haines-Hutt RF, Bradford E, Palmer A, Rowland CG. Pharmaceutical aspects of home infusion therapy for cancer patients. Pharm J. 1987 ; 238: 476-478.

[12] Hrubisko M, Mc Gown AT, Prendiville JA, Radford JA, Thatcher N, Fox BW. Suitability of cisplatin solutions for 14-day continuous infusion by ambulatory pump. Cancer Chemother Pharmacol. 1992 ; 29: 252-255.

[13] Priston MJ, Sewell GJ. Stability of three cytotoxic drugs infusions in the Graseby 9000 ambulatory infusion pump. J Oncol Pharm Practice. 1998 ; 4: 143-149.

[14] Société française d'hématologie. Référentiel 2009. Page consultée le 01 septembre 2013

http://sfh.hematologie.net/hematolo/UserFiles/File/REFERENTIEL_SFH_2008_2009.pdf

[15] Thésaurus CHU Toulouse. Page consultée le 01 septembre 2013

http://med2.pagesperso-orange.fr/import/CANCERO/PROTOCOLES/myelome_vad.htm

[16] Nyhammar EK, Johansson SG, Seiving BE. Stability of doxorubicin and vincristine sulfate in two portable infusion-pump reservoirs. Am J Health-Syst. 1996 ; 53: 1171-1173.

[17] Beijnen JH, Neef C, Meuwissen OJAT, Rutten JJMH, Rosing H, Underberg WJM. Stability of intraveinous admixtures of doxorubicin and vincristine. Am J Hosp Pharm. 1986 ; 43 : 3022-3027

[18] Trittler R. Stability of intravenous admixtures of doxorubicin and vincristine confirmed by LC-MS. EJHP Science. 2006 ; 12, 1: 10-12.

[19] Trissel LA, Gilbert DL, Martinez JF. Compatibility of granisetron hydrochloride with selected drugs during simulated Y-site administration. Am J Health-Syst Pharm. 1997 ; 54: 56-60.

[20] Stewart JT, Warren FW, King DT, Fox JL. Stability of ondansetron hydrochloride and five antineoplasic medications. Am J Health-Syst Pharm. 1996 ; 53: 1297-1300.

[21] Munson J, Kubiak EJ, Cohon MS. Cytosine arabinose stability in intravenous admixtures with sodium bicarbonate and in plastic syringes. Drug Intell Clin Pharm. 1982 ; 16: 765-767.

[22] Vigneron J. Stability studies of drugs used in oncology: the role of the hospital pharmacists. EJHP Practice 2006; 12(6) : 75-76.

[23] Vigneron J, Astier A, Trittler R, Hecq JD, Daouphars M, Larsson I, Pourroy B, Pinguet F. SFPO and ESOP recommendations for the practical stability of anticancer drugs : An update. Ann Pharm. Fr. 2013. In press.

[24] Vigneron J, Garnier S, Delfour A, May I, Demoré B. Extended stability of rituximab, bortezomib and azacitidine : application in the daily practice in haematology. EJOP. 2012 ; 6(2) : 12-13.

[25] Dictionnaire Vidal®. Résumé des caractéristiques du produit Velcade®. 89ème éd. Paris, 2013, p2493

[26] Perissutti M. Mémoire du DES De Pharmacie Hospitalière et des Collectivités : Etude de la stabilité d'une solution de Bortezomib à 1 mg/mL conditionnée en seringue de polypropylène - Application à la production quotidienne d'une unité de production centralisée de préparation de cytotoxiques pour le service d'hospitalisation de jour d'Hématologie. Nancy. Octobre 2011.

[27] Giovanelli M. Mémoire de DES Pharmacie- Etude de la stabilité d'une solution de bortezomib à 2,5 mg/mL conditionnée en seringue à tuberculine en polypropylène par chromatographie liquide couplée à un détecteur à barrette de diodes et à un détecteur évaporatif à diffusion de lumière. Nancy. Mai 2013.

[28] Bardin C, Astier A, Vulto A, Sewell G, Vigneron J, Trittler R, Daouphars M, Paul M, Trojniak M, Pinguet F. Guidelines for the pratical stability studies of anticancer drugs : A European consensus conference. Ann Pharm Fr. 2011 ; 69 : 221-231.

[29] Bakshi M, Singh S. Development of stability-indicating assay methods – critical review. J Pharm Biomed Anal. 2002 ; 28 : 1011-1040.

[30] Maggio R, Vignaduzzo S, Kaufman T. Practical and regulatory considerations for stability-indicating methods for the assay of bulk drugs and drug formulations. Trends Anal Chem. 2013 ; In press.

[31] Riddhiben P, Piyushbhai P, Natubhai P. Stability indicating HPLC method development – a review. Int Res J Pharm 2011 ; 2 : 79-87.

[32] Nageswara Rao R, Nagaraju V. An overview of the recent trends in development of HPLC methods for determination of impurities in drugs. J Pharm Biomed Anal. 2003 ; 33 : 335-337.

[33] Food and Drug Administration, Department of Health and Human Services. Guidance for Industry, Analytical Procedures and Method Validation. August 2010, Page consultée le 25 juillet 2013

www.fda.gov/guidance/index.htm

[34] Food and Drug Administration, Department of Health and Human Services. Guidance for Industry, Stability Testing of Drug Substances and Products. September 2012, Page consultée le 25 juillet 2013

www.fda.gov/guidance/index.htm

[35] Hagan RL. High-Performance liquid chromatography for small-scales studies of drug stability. Am J Hosp Pharm. 1994; 51 : 2162-2175.

[36] ICH Guidelines. Page consultée le 25 juillet 2013

www.ich.org/products/guidelines.html

[37] International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. Stability testing : Photostability testing of new drugs products and substances – ICH Q1B, Step 4, November 1996.

[38] International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. Stability testing : Stability testing for new dosage forms – ICH Q1C, Step 4, November 1996.

[39] International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. Evaluation for stability data – ICH Q1E, Step 4, February 2003.

[40] International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. Validation of analytical procedures : text and methodology – ICH Q2(R1), Step 4, November 2005.

[41] International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. Impurities in new drug substances – ICH Q3A(R2), Step 4, October 2006

[42] International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. Impurities in new drug products – ICH Q3B(R2), Step 4, July 2006.

[43] International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. Quality of biotechnological products : stability testing of biotechnological/biological products – ICH Q5C, Step 4, November 1995.

[44] International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. Specifications : Test procedures and acceptance criteria for new drug substances and new drug products : chemical substances – ICH Q6A, Step 4, October 1999.

[45] International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. Specifications : Test procedures and acceptance criteria for biotechnological / Biological products – ICH Q6B, Step 4, March 1999.

[46] Brossard D, Chedru-Legros V, Crauste-Manciet S, Fleury-Souverain S, Lagarce F, Odou P, Roy S, Sadeghipour F, Sautou V. Guide Méthodologique des Etudes de Stabilité des Préparations. Coord. V. Sautou, 1ère éd. SFPC/GERPAC, avril 2013, Page consultée le 25 juillet 2013

http://www.sfpc.eu/fr/item1/finish/34-documents-sfpc-public/354-guide-sfpc-methodolgie-des-etudes-de-stabilite-des-preparations/0.html

[47] European Pharmacopeia. Essai 2.2.1 :Clarity and degree of opalescence of liquids. Page consultée le 15 décembre 2012.

http://online6.edqm.eu/ep705/#doc_5_of_17605

[48] European Pharmacopeia. Essai 2.9.20 : Particulate contamination: visible particles. Page consultée le 15 décembre 2012.

http://online6.edqm.eu/ep705/#doc_1_of_28

[49] European Pharmacopeia. Essai 2.9.19. Particulate contamination: sub-visible particles. Page consultée le 15 décembre 2012.

http://online6.edqm.eu/ep705/#doc_2_of_1624

[50] Xu QA, Trissel LA. Stability-indicating HPLC methods for drug analysis. New York : McGraw-Hill; 1999, 904p.

[51] Connors KA, Amidon GL, Stella VJ. Chemical Stability of Pharmaceuticals : A Handbook for Pharmacists. Wiley, New-York, 1986, 864p.

[52] Deepti Jain, Pawan Kumar Bansiwal. Forced degradation and impurity profiling : Recent trends in analytical perspectives. J Pharm Biomed Anal. 2013, 86 : 11-35.

[53] Ngwa G. Forced Degradation an Integral Part of HPLC Stability-indicating Method Development. Drug Delivery Technology. 2010; 10 (5) : 56-59.

[54] Reynolds DW, Facchine KL, Mullaney JF, Alsante KM, Hatajik TD, Motto MG. Available Guidance and Best Practices for Conducting Forced Degradation Studies. Pharm Technol. 2002 ; 26(2): 48-56.

[55] Swartz M and Krull I. Developing and validating Stability-Indicating Methods. LCGC North America. 2005 ; 23(6) : 586-593.

[56] Baertschi SW. Analytical methodologies for discovering and profiling degradation-related impurities. Trends Anal Chem. 2006 ; 25(8) : 758-767.

[57] Görög S. The importance and the challenges of impurity profiling in modern pharmaceutical analysis. Trends Anal Chem. 2006 ; 25(8) : 755-757.

[58] Görög S. The role of analytical chemistry in drug-stability studies. Trends Anal Chem. 2013 ; 49 : 55-56.

[59] Olsen BA, Castle BC, Myers DP. Advances in HPLC technology for the determination of drug impurities. Trends Anal Chem. 2006 ; 25(8) : 796-805.

[60] Dolan JW. Stability-Indicating Assays. LCGC North America. 2002 ; 20(4) : 346-349.

[61] Feinberg M. Labostat Guide de validation des méthodes d'analyse. Paris, 2009, Lavoisier, 361p

[62] Eppler A, Weigandt M, Hanefeld A, Bunjes H. Relevant shaking stress conditions for antibody preformulation development. EJPB. 2010 ; 74 : 139-147.

[63] Harris M. Monoclonal antibodies as therapeutic agents for cancer. Lancet Oncol. 2004 ; 5 : 292-302.

[64] Lahlou A, Blanchet B, Carvalho M, Paul M, Astier A. Mechanically-induced aggregation of the monoclonal antibody cetuximab. Ann Pharm Fr. 2009 ; 67 : 340-352.

[65] Manning MC, Chou DK, Murphy BM, Payne RW, Katayama DS. Stability of Proteins Pharmaceuticals : An Update. Pharmaceut Res. 2010 ; 27(4) : 544-575

[66] Daugherty AL, Mrsny RJ. Formulation and delivery issues for monoclonal antibody therapeutics.

Adv Drug Deliver Rev. 2006 ; 58 : 686-706.

[67] Chow A, Tong H, Zheng Y. Stability Assessment and Formulation Charaterization, Handbook of Pharmaceutical Biotechnology. Edited by Shayne Cox Gad. 2007, 1660p.

[68] Wang W, Nema S, Teagarden D. Protein aggregation – Pathways and influencing factors. Int J Pharm. 2010 ; 390 : 89-99.

[69] Privalov P.L. Stability of Proteins : small globular proteins. Adv Protein Chem. 1979 ; 33 : 167-241.

[70] Freire E, Schön A, Hutchins B, Brown K. Chemical Denaturation as a tool in the formulation optimization of biologics. Drug Discov. Today. July 2013 on press.

[71] Jiskoot W, Crommelin D. What makes protein drugs different ? Pharmaceutical aspects, EJHP Practice. 2006 ; 12(5) : 20-21.

[72] Crommelin D, Jiskoot W. What makes protein drugs different ? Some considerations of shifting paradigms in Pharmacy. EJHP Practice. 2006 ; 12(5) : 14-16.

[73] Wang W. Protein aggregation and its inhibition in biopharmaceutics. Int J Pharm. 2005 ; 289 : 1-30.

[74] Philo JS, Arakawa T. Mechanisms of Proteins aggregation. Curr Pharm Biotechnol. 2009 ; 10 : 348-351.

[75] Thorpe R, Wadhwa M. Protein Therapeutics and Their Immunogenicity. EJHP Practice. 2006 ; 12(5) : 17-18.

[76] Kessler M, Goldsmith D, Schellekens H. Immunogenicity of biopharmaceuticals. Nephrol Dial Transplant. 2006 ; 21(5) : 9-12.

[77] Schellekens H. Bioequivalence and the immunogenicity of biopharmaceuticals. Nat Rev Drug Discov. 2002 ; 1(6) : 457-462.

[78] Filipe V, Jiskoot W, Basmeleh AH, Halim A, Schellekens H, Brinks V. Immunogenicity of different stresses IgG monoclonal antibody formulations in immune tolerant transgenic mice. MAbs. 2012 ; 4(6) : 740-752.

[79] Schellekens H. The immunogenicity of Therapeutics proteins. Discovery Medicine. 2010 ; 9(49) : 560-564.

[80] Arakawa T, Prestrelski SJ, Kenney WC, Carpenter JF. Factors affecting short-term and long-term stabilities of proteins. Adv Drug Deliver Rev. 2001 ; 46 : 307-326.

[81] Ikesue H, Vermeulen LC, Hoke R, Kolesar JM. Stability of cetuximab and panitumumab in glass vials and polyvinyl chloride bags. Am J Health-System Pharm. 2010 ; 67, 3: 223-226.

[82] Zhang Y, Vermeulen LC, Kolesar JM. Stability of stock and diluted rituximab. Am J Health-System Pharm. 2013 ; 70:436-438.

[83] Paul M, Vieillard V, Jaccoulet E, Astier A. Long-term stability of diluted solutions of the monoclonal antibody rituximab. Int J Pharm. 2012 ; 436: 282-290.

[84] Gindre I. Mémoire du DES De Pharmacie Hospitalière et des Collectivités – Création d'une base de données sur CD-Rom, conçue dans un langage international à base de pictogrammes, concernant la stabilité et la compatibilité des médicaments injectables. Nancy. Octobre 2000.

[85] Williams LA, Hastings MB. Identifying the criteria of a valid stability study. Int J Pharm Compound. 2009 ; 13 : 32-36.

[86] SFPO Stability group. SFPO and ESOP recommendations for the practical stability of anticancer drugs. EJOP. 2010 ; 4(3) : 7-10.

[87] Dine T, Luyckx M, Cazin JC, Goudaliez F, Mallevais ML. Stability and compatibility studies of vinblastine, vincristine, vindesine and vinorelbine with PVC infusion bags. Int J Pharm. 1991 ; 77 : 279-285.

[88] Sewell GJ, Riley CM, Rowland CG. The stability of carboplatin in ambulatory continuous infusion regimes. J Clin Pharm Ther. 1987 ; 12 : 427-432.

[89] Sesin GP, Millette LA, Weiner B. Stability study of 5-fluorouracil following repackaging in plastic disposable syringes and multidose vials. Am J IV Ther Clin Nut. 1982 ; 9: 23-25, 29-30.

[90] Fredriksson K, Lundgren P, Landersjo L. Stability of carmustine - kinetics and compatibility during administration. Acta Pharm Suec. 1986 ; 23: 115-124.

[91] Allwood MC, Martin HJ. The extraction of diethylhexylphtalate (DEHP) from polyvinyl chloride components of intravenous infusion containers and administration sets by paclitaxel injection. Int J Pharm. 1996 ; 127: 65-71.

[92] Pearson SD, Trissel LA. Leaching of diethylhexyl phthalate from polyvinyl chloride containers by selected drugs and formulation components. Am J Hosp Pharm. 1993 ; 50: 1405-1409.

[93] Trissel LA, Xu QA, Kwan J, Martinez JF. Compatibility of paclitaxel injection vehicle with intravenous administration and extension sets. Am J Hosp Pharm. 1994 ; 51: 2804-2810.

[94] Mazzo DJ, Nguyen-Huu JJ, Pagniez S, Denis P. Compatibility of docetaxel and paclitaxel in intravenous solutions with polyvinyl chloride infusion materials. Am J Health-Syst Pharm. 1997 ; 54: 566-569.

[95] Waugh WN, Trissel LA, Stella VJ. Stability, compatibility, and plasticizer extraction of taxol (NSC-125973) injection diluted in infusion solutions and stored in various containers. Am J Hosp Pharm. 1991 ; 48: 1520-1524.

[96] Kim SC, Yoon HJ, Lee JW, Yu J, Park ES, Chi SC. Investigation of the release behavior of DEHP from infusion sets by paclitaxel-loaded polymeric micelles. Int J Pharm. 2005 ; 293: 303-310.

[97] Corbrion V, Crauste-Manciet S, Allain P, Brossard D. Precipitation of fluorouracil in elastomeric infusers with a polyisoprene reservoir and in polypropylene syringes with an elastomeric joint. Am J Health-Syst Pharm. 1997 ; 54: 1845-1848.

[98] Allwood MC. Fluorouracil precipitate. Am J Health-Syst Pharm. 1998 ; 55: 1315-1316.

[99] Colvin M, Hartner J. Summerfield M, Stability of carmustine in the presence of sodium bicarbonate.

Am J Hosp Pharm. 1980 ; 37: 677-678.

[100] Manners S, Galettis P, De Souza P. Conditions causing gemcitabine crystallization. J Oncol Pharm Practice. 2011 ; 17, 4: 395-399.

[101] Chang SY, Evans TL, Alberts DS. The stability of melphalan in the presence of chloride ion.

J Pharm Pharmacol. 1979 ; 31: 853-854.

[102] Respaud R, Quenum L, Plichon C, Tournamille JF, Gyan E, Antier D, Viaud-Massuard MC. A stability-indicating, ion-pairing, reversed-phase liquid chromatography method for studies of daunorubicin degradation in i.v. infusion fluids. J Pharm Biomed Anal. 2013 ; 83 : 164-170.

[103] Paul M, Vieillard V, Jaccoulet E, Astier A. Physicochemical and biological stability of diluted rituximab solutions stored 6 months at 4°C. Congrès ECCO. Stockholm 2011.

[104] Nicolson O, d'Hayer B, Vieillard V, Dollet S, Astier A, Paul M. Stability of diluted L-asparaginase in normal saline solution. Congrès ECCO. Stockholm 2011.

[105] Kaiser J , Kramer I. Physicochemical Stability of Diluted Trastuzumab Infusion Solutions in Polypropylene Infusion Bags. Int J Pharm Compound. 2011 ; 15, 6 : 515-520.

[106] Kupfer M, Scriba G, Hartmann M. Stability of alemtuzumab in infusion bags. Pharmazie. 2009 ; 64, 9: 622-623.

[107] Haute Autorité de Santé. Etats des lieux : Niveau de preuve et gradation des recommandations de bonne pratique. Paris. Avril 2013.

[108] Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé. Guide d'analyse de la littérature et gradation des recommandations. Paris. Janvier 2000.

[109] Figon S, Erpeldinger S. Recommandations, niveaux de preuve, EBM et décision médicale. Page consultée le 30 août 2013

http://clge.fr/IMG/pdf/PPT_4_nvx_de_preuve_decision.pdf

[110] Criton M. Les systèmes de notation. Tangente éducation. 2008 ; 4 : 1-5.

[111] Ministère de l'Education Nationale. Circulaire N° IV-69-1 du 6 janvier 1969, Premiers éléments relatifs aux compositions. Notes et classements. Paris. Janvier 1969.

[112] Mahler HC, Muller R, Friess W, Delille A, Matheus S. Induction and analysis of aggregates in a liquid IgG1-antibody formulation. Eur J Pharm Biopharm. 2005 ; 59, 407–417.

[113] Balthasar JP. Concentration-dependent incompatibility of vinorelbine tartrate and heparin sodium.

Am J Health-SystPharm. 1999 ; 56: 1891.

[114] Dorr RT, Liddil JD. Stability of mitomycin C in different infusion fluids : compatibility with heparin and glucocorticosteroids. J Oncol Pharm Practice. 1995 ; 1 : 19-24.

[115] Stolk LML, Fruijtier A, Umans R. Stability after freezing and thawing of solutions of mitomycin C in plastic minibags for intravesical use. Pharm Weekbl. 1986 ; 8: 286-288.

[116] Bolognese A, Esposito A, Manfra M, Catalano L, Petruzziello F, Martorelli MC, Pagliuca R, Mazzarelli V, Ottiero M, Scalfaro M. An NMR Study of the Bortezomib Degradation under Clinical Use Conditions. Advance in Haematology. 2009 Article ID 704928, 5p.

[117] Quebbeman EJ, Hamid AAR, Hoffman NE, Ausman RK. Stability of fluorouracil in plastic containers used for continuous infusion at home. Am J Hosp Pharm. 1984 ; 41: 1153-1156.

[118] Zhang YP, Xu QA, Trissel LA, Gilbert DL, Martinez F. Compatibility and stability of paclitaxel combined with cisplatin and with carboplatin in infusion solutions. Ann Pharmacotherapy. 1997 ; 31: 1465-1470.

[119] Baud-Camus F, Crauste-Manciet S, Klein E, Richard L, Brossard D. Stability of fluorouracil in polypropylene syringes and ethylene vinyl acetate infusion-pump reservoirs. Am J Health-Syst Pharm. 1996 ; 53: 1457-1458.

[120] Keusters L, Stolk LML, Umans R, Van Asten P. Stability of solutions of doxorubicin and epirubicin in plastic minibags for intravesical use after storage at -20°C and thawing by microwave radiation. Pharm Weekbl [SCI]. 1986 ; 8: 194-197.

[121] Cradock JC, Kleinmann LM, Rahman A. Evaluation of some pharmaceutical aspects of intrathecal methotrexate sodium, cytarabine and hydrocortisone sodium succinate. Am J Hosp Pharm. 1978 ; 35: 402-406.

[122] Burm JP, Choi JS, Jhee SS, Chin A, Ulrich RW, Gill MA. Stability of paclitaxel and fluconazole during simulated Y-site administration. Am J Hosp Pharm. 1994; 51: 2704-2706.

[123] Lieu CL, Chin A, Gill MA. Five-day stability of vinorelbine in 5% dextrose injection and in 0.9% sodium chloride injection at room temperature. Int J Pharm Compound. 1999 ; 3: 67-68.

[124] Dine T, Khalfi F, Gressier B, Luyckx M, Brunet C, Ballester L, Goudaliez F, Kablan J, Cazin M, Cazin JC. Stability study of fotemustine in PVC infusion bags and sets under various conditions using a stability-indicating high-performance liquid chromatographic assay. J Pharm Biomed Anal. 1998 ; 18: 373-381.

[125] Kwong Glover ZW, Gennaro L, Yadav S, Demeule B, Wong PY, Sreedhara A. Compatibility and stability of pertuzumab and trastuzumab admixtures in i.v. infusion bags for coadministration. J Pharm Sci. 2012 ; DOI 10.1002 / jps.23403.

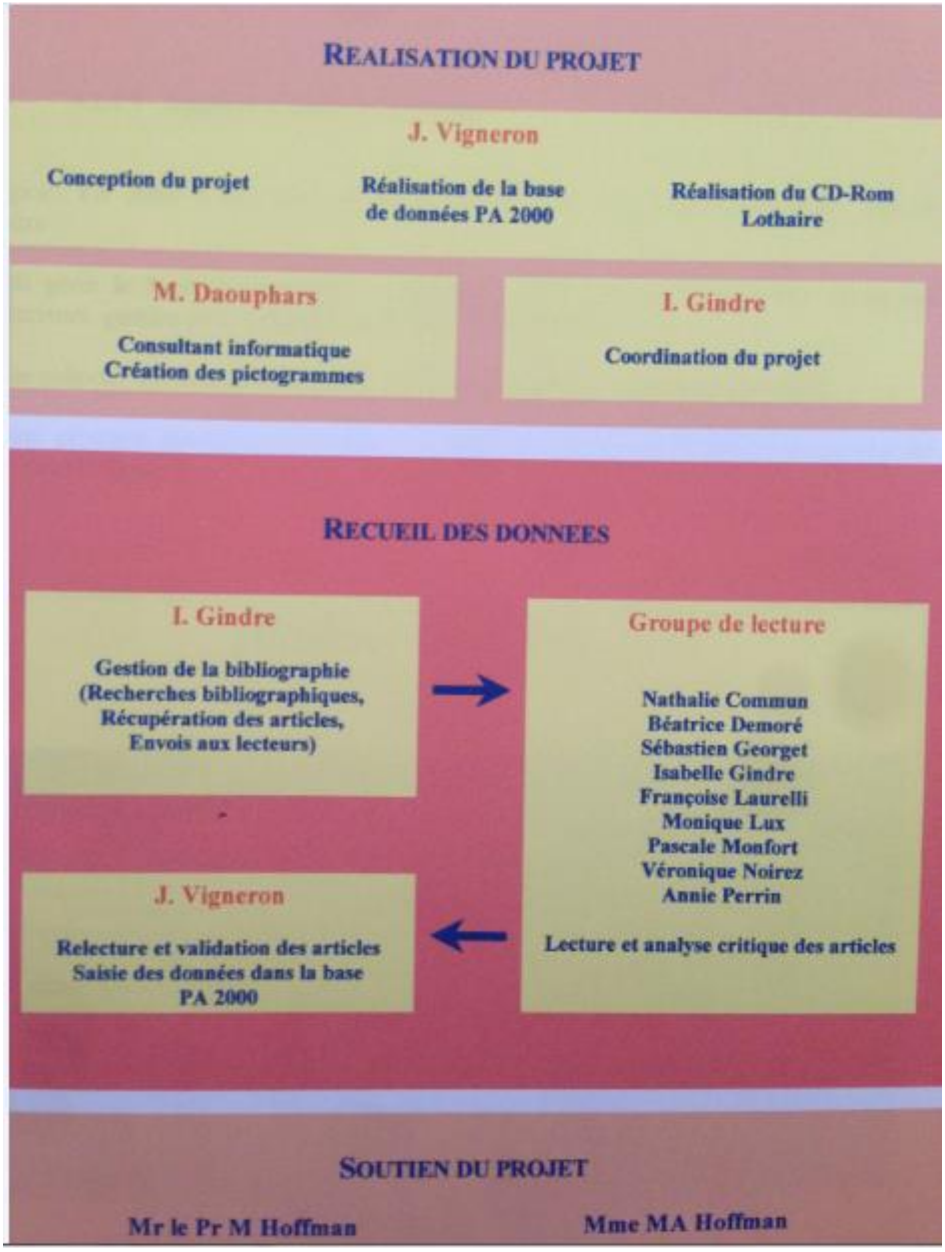
[126] Goldspiel JT, Goldspiel BR, Grimes GJ, Yuan P, Potti G. Stability of alemtuzumab solutions at room temperature. Am J Health-Syst Pharm. 2013 ; 70:439-442.

[127] Zhang Y, Vermeulen LC, Kolesar JM. Stability of stock and diluted rituximab. Am J Health-Syst Pharm. 2013 ; 70:436-438.

[128] Kolesar JM, Vermeulen L. Assays for biological agents. Am J Health-Syst Pharm. 2013 ; 70(1) : 1101.

Annexes

Annexe 1 : Organigramme du projet PA 2000



Annexe 2 : Formulaire d'évaluation des articles – « molécules classiques »

METHODE

Stabilité physique

- Contrôle visuel Oui Non
- Contrôle subvisuel
  - Turbidimétrie Oui Non
  - Microscopie Oui Non
  - Comptage particulaire Oui Non

Stabilité chimique

- Méthode : HPLC□ HPTLC □ CCM □ autre □
- Description de la méthode : Oui Non
- Détection : UV DAD Masse Fluorimétrie Electrochimie Autre :....
- Etalon interne Oui Non
- Validation de la méthode
  - Gamme d'étalonnage / coef. corrélation Oui Non
  - Répétabilité (précision intra-série : CV < 2%) Oui Non
  - Reproductibilité (précision inter-série : CV < 4%) Oui Non
  - Capacité indicatrice de stabilité Oui Non
    - Dégradation forcée (description) Oui Non
    - Détection des produits de dégradation Oui Non
    - Diminution des concentrations de la molécule étudiée Oui Non

Autres méthodes

- pH Oui Non
- Osmolalité Oui Non
- Activité biologique Oui Non
- Perte d'eau par évaporation Oui Non
- Recherche de contaminants (DEHP…) Oui Non

RESULTATS

Stabilité physique

- Contrôle visuel : changement de couleur, d'aspect, précipité… Oui Non
- Contrôle subvisuel

Stabilité chimique

- Stabilité établie avec x% de la concentration initiale 90% 95%
- Expression « chiffrée » des résultats Oui Non
- CV < 5% Oui Non
- Si chute de concentration :
  - explication, produits de dégradation Oui Non NA
- Si augmentation de concentration :
  - explication, produits de dégradation, évaporation... Oui Non NA
- Cohérence globale Oui Non

- Produits de dégradation commentés	Oui	Non
- Produits de dégradation quantifiés	Oui	Non
- Produits de dégradation identifiés	Oui	Non
- Aucun commentaire sur les produits de dégradation	Oui	Non

Autres méthodes
- pH
- Osmolalité
- Activité biologique
-Perte d'eau par évaporation

Autres items

- Stabilité pour « Dose Banding »	Oui	Non

(concept = +/- 5% par rapport à la dose calculée selon la SC)

PROPOSITION DE COTATION

- A□ , A+□, B☐, B+☐, C□, C+□, D□, E□, Joker □

Commentaires standardisés (justification ou précision quant à la cotation)

- Variation de pH non commentée ou difficilement interprétable
- Capacité indicatrice de stabilité insuffisamment évaluée
- Méthode biologique uniquement
- Non côté : étude de compatibilité seule
- Non côté : étude interaction contenant / contenu
- Non côté : facteur influençant la stabilité
- Répétabilité / reproductibilité / gamme étalon : résultats non fournis ou en dehors des bornes fixées
- Séparation de l'étalon interne par rapport au produit à l'étude ou ses produits de dégradation imparfaite ou insuffisamment étudiée

Annexe 3 : Première proposition de grille de cotation– « molécules classiques »

Cotation A
- Aspect visuel - méthode séparative T95 avec variabilité faible (cohérence globale) - validation "complète" de la méthode (selon nos critères) - pas de modification de pH supérieure à 0,5 unité - absence de produits de dégradation
Cotation B
- idem A mais T90
Cotation C
- T95 mais méthode analytique discutable
Cotation D
- T90 mais méthode analytique discutable
Cotation E
Méthode biologique uniquement

Annexe 4 : Formulaire d'évaluation des articles – « protéines »

Activité biologique Oui Non

Aspect physique :
- Turbidimétrie Oui Non
- Chromatographie d'exclusion de gel (size exclusion chromatography) Oui Non
- Diffusion dynamique de la lumière (dynamic light scattering) Oui Non
- Courbe d'agrégation en fonction de la température Oui Non

Aspect chimique
- Cartographie peptidique (peptide mapping) Oui Non
- Chromatographie ionique (ionic chromatography) Oui Non
- Spectroscopie UV et dérivée seconde (structure tertiaire) Oui Non
- Spectroscopie IR et dérivée seconde (structure secondaire) Oui Non
- Electrophorèse capillaire Oui Non

Commentaires :

Annexe 5 : Première proposition de grille de cotation– «protéines»

Cotation A
Toutes les méthodes type protéine (aspects physique, chimique et biologique)
Cotation B
Idem A sans aspect biologique
Cotation C
3 méthodes avec aspects physique et biologique
Cotation D
Méthode physique uniquement
Cotation E
Méthode biologique uniquement

Annexe 6 : Proposition validée de grille de cotation – « molécules classiques »

Cotation A OU A+ si aspect subvisuel compris
- Aspect visuel - méthode séparative T95 avec variabilité faible (cohérence globale) - validation "complète" de la méthode (selon nos critères)
Cotation B OU B+ si aspect subvisuel compris
- T90 mais méthode analytique validée avec variabilité faible, et cohérence globale - T95, méthode validée avec variabilité faible, cohérence globale, mais sans aspect visuel
Cotation C
T95 mais méthode séparative comportant jusqu'à 2 critères parmi les suivants : - Stability indicating non évalué - Variabilité des résultats, cohérence globale - répétabilité et/ou reproductibilité et/ou standard curve non précisée(s) ou supérieures aux bornes fixées - expression des résultats non chiffrée - Séparation des PD / étalon interne non évaluée ou Choix non justifié d'une méthode autre que CLHP (CCM, HPTLC, spectrophotométrie seule…) et T95
Cotation D
T90 mais méthode séparative comportant un ou plusieurs critères parmi les suivants ou T95 mais méthode séparative comportant plus de 2 critères parmi les suivants : - Stability indicating non évalué - Variabilité des résultats, cohérence globale - répétabilité et/ou reproductibilité et/ou standard curve non précisée(s) ou supérieures aux bornes fixées - expression des résultats non chiffrée - Séparation des PD / étalon interne non évaluée ou Choix non justifié d'une méthode autre que CLHP (CCM, HPTLC, spectrophotométrie seule…) et T90
Cotation E
Méthode biologique uniquement

Annexe 7 : Proposition validée de grille de cotation– «protéines»

Cotation A ou A+ si une des méthodes physique est la turbidimétrie (subvisuel)
- Aspect physique : 2 méthodes au minimum - Aspect chimique : 3 méthodes minimum par cartographie peptidique, CEX et SEC (mais des méthodes alternatives comme la spectrophotométrie UV, IR, la SM et l'EC peuvent être utilisées) - Aspect biologique : au moins une méthode
Cotation B ou B+ si une des méthodes physique est la turbidimétrie (subvisuel)
Idem A sans aspect biologique
Cotation C
Seulement 3 ou 4 méthodes au total dont physique, chimique et/ou biologique
Cotation D
Méthode physique uniquement ou moins de trois méthodes au total
Cotation E
Méthode biologique uniquement ou méthode non applicable aux protéines (type CLHP classique ou autre)

Annexe 8 : Exemple d'une publication cotée en A+ (cas des molécules classiques)

Molécule «classique» (article 32) Doxorubicine et Vincristine A+

METHODE

Stabilité physique

- - Contrôle visuel **Oui** Non
- Contrôle subvisuel
  - Turbidimétrie **Oui** Non
  - Microscopie Oui Non
  - Comptage particulaire Oui Non

Stabilité chimique

- Méthode : **HPLC**□ HPCE □ HPTLC □ CCM □
- Description de la méthode : **Oui** Non
- Détection **: UV** DAD Masse Fluorimétrie Electrochimie Autre :....
- Etalon interne Oui **Non**
- Validation de la méthode
  - Gamme d'étalonnage / coef. corrélation **Oui** Non
  - Within-day (= intra assay) reproducibility (< 2%) **Oui** Non
  - Between-day (= inter assay) reproducibility (< 4%) **Oui** Non
  - Capacité indicatrice de stabilité **Oui** Non
    - Dégradation forcée (description) **Oui** Non
    - Détection des produits de dégradation **Oui** Non
    - Diminution des concentrations de la molécule étudiée **Oui** Non

Autres méthodes

- pH **Oui** Non
- Osmolalité Oui Non
- Activité biologique Oui Non
- Perte d'eau par évaporation Oui Non
- Recherche de contaminants (DEHP…) Oui Non

RESULTATS

Stabilité physique

- Contrôle visuel : changement de couleur, d'aspect, précipité… **Oui** Non
- Contrôle subvisuel

Stabilité chimique

- Stabilité établie avec x% de la concentration initiale 90% **95%**
- Expression « chiffrée » des résultats **Oui** Non
- CV < 5% **Oui** Non
- Si chute de concentration :
  explication, PD... Oui Non **NA**
- Si augmentation de concentration :
  explication, PD, évaporation... Oui Non **NA**
- Cohérence globale **Oui** Non

- Produits de dégradation commentés	**Oui**	Non
- Produits de dégradation quantifiés	**Oui**	Non
- Produits de dégradation identifiés	Oui	**Non**
- Aucun commentaire sur les produits de dégradation	Oui	**Non**

Autres méthodes

- pH

- Osmolalité
- Activité biologique

-Perte d'eau par évaporation

Autres items

- Stabilité pour « Dose Banding » (concept = +/- 5% par rapport à la dose calculée selon la SC)	Oui	Non

PROPOSITION DE COTATION

-A☐ **A+**□ , B☐ , B+☐, C□ , C+□ D□ , E□ , Joker □

Commentaires standardisés (justification ou précision quant à la cotation)

- Produits de dégradation quantifiés mais non identifiés

Annexe 9 : Exemple d'une publication cotée en A+ (cas des protéines)

Protéines : (article 3241) Rituximab A+

Activité biologique	**Oui : activité antiCD20**	
Aspect physique :		
- Turbidimétrie	Oui	**Non**
- Chromatographie d'exclusion de gel (size exclusion chromatography)	**Oui**	Non
- Diffusion dynamique de la lumière (dynamic light scattering)	**Oui**	Non
- Courbe d'agrégation en fonction de la température	Oui	**Non**
Aspect chimique		
- Cartographie peptidique (Peptide mapping)	**Oui**	Non
- Chromatographie ionique (Ionic Chromatography)	**Oui**	Non
- Spectroscopie UV et dérivée seconde (structure tertiaire)	**Oui**	Non
- Spectroscopie IR et dérivée seconde (structure secondaire)	**Oui**	Non
- Electrophorèse capillaire	**Oui**	Non

Commentaire : Aucun

Annexe 10 : Exemple d'une publication cotée en A (cas des molécules classiques)

Molécule «classique» (article 2010) : Bortezomib

METHODE

Stabilité physique

- Contrôle visuel **Oui** Non
- Contrôle subvisuel
  - Turbidimétrie Oui Non
  - Microscopie Oui Non
  - Comptage particulaire Oui Non

Stabilité chimique

- Méthode : **HPLC**□ HPCE □ HPTLC □ CCM □
- Description de la méthode : **Oui** Non
- Détection : **UV** DAD Masse Fluorimétrie Electrochimie Autre :....
- Etalon interne **Oui : quinine** Non
- Validation de la méthode
  - Gamme d'étalonnage / coef. corrélation **Oui** Non
  - Within-day (= intra assay) reproducibility (< 2%) **Oui** Non
  - Between-day (= inter assay) reproducibility (< 4%) **Oui** Non
  - Capacité indicatrice de stabilité **Oui** Non
    - Dégradation forcée (description) Oui Non
    - Détection des produits de dégradation **Oui** Non
    - Diminution des concentrations de la molécule étudiée **Oui** Non

Autres méthodes

- pH **Oui** Non
- Osmolalité Oui Non
- Activité biologique Oui Non
- Perte d'eau par évaporation Oui Non
- Recherche de contaminants (DEHP…) Oui Non

RESULTATS

Stabilité physique

- Contrôle visuel : changement de couleur, d'aspect, précipité… **Oui** Non
- Contrôle subvisuel

Stabilité chimique

- Stabilité établie avec x% de la concentration initiale 90% **95%**
- Expression « chiffrée » des résultats **Oui** Non
- CV < 5% **Oui** Non
- Si chute de concentration :
  explication, PD... Oui Non **NA**
- Si augmentation de concentration :
  explication, PD, évaporation... **Oui** Non **NA**
- Cohérence globale **Oui** Non

- Produits de dégradation commentés	**Oui**	Non
- Produits de dégradation quantifiés	**Oui**	Non
- Produits de dégradation identifiés	Oui	**Non**
- Aucun commentaire sur les produits de dégradation	Oui	**Non**

Autres méthodes
- pH
- Osmolalité
- Activité biologique
-Perte d'eau par évaporation

Autres items

- Stabilité pour « Dose Banding » (concept = +/- 5% par rapport à la dose calculée selon la SC)	Oui	Non

PROPOSITION DE COTATION

- **A**□ , A+□, B☐, B+☐, C□, C+□, D□, E□, Joker □

Commentaires standardisés (justification ou précision quant à la cotation)

- Produits de dégradation quantifiés mais non identifiés

Annexe 11 : Exemple d'une publication cotée en B+

Molécule «classique» (article 658) Busulfan

METHODE

Stabilité physique

- Contrôle visuel	**Oui**	Non
- Contrôle subvisuel		
- Turbidimétrie	**Oui**	Non
- Microscopie	Oui	Non
- Comptage particulaire	Oui	Non

Stabilité chimique

- Méthode : **HPLC**□ HPCE □ HPTLC □ CCM □
- Description de la méthode : **Oui** Non
- Détection : **UV** DAD Masse Fluorimétrie Electrochimie Autre :....
- Etalon interne Oui **Non**
- Validation de la méthode

- Gamme d'étalonnage / coef. corrélation	**Oui**	Non
- Within-day (= intra assay) reproducibility (< 2%)	**Oui**	Non
- Between-day (= inter assay) reproducibility (< 4%)	**Oui**	Non
- Capacité indicatrice de stabilité	**Oui**	Non
▪ Dégradation forcée (description)	**Oui**	Non
▪ Détection des produits de dégradation	**Oui**	Non
▪ Diminution des concentrations de la molécule étudiée	**Oui**	Non

Autres méthodes

- pH	Oui	**Non**
- Osmolalité	Oui	Non
- Activité biologique	Oui	Non
- Perte d'eau par évaporation	Oui	Non
- Recherche de contaminants (DEHP…)	Oui	Non

RESULTATS

Stabilité physique

- Contrôle visuel : changement de couleur, d'aspect, précipité…	**Oui**	Non
- Contrôle subvisuel		

Stabilité chimique

- Stabilité établie avec x% de la concentration initiale	**90%**	95%	
- Expression « chiffrée » des résultats	**Oui**	Non	
- CV < 5%	**Oui**	Non	
- Si chute de concentration : explication, PD...	Oui	Non	**NA**
- Si augmentation de concentration : explication, PD, évaporation...	Oui	Non	**NA**
- Cohérence globale	**Oui**	Non	

- Produits de dégradation commentés	Oui	Non
- Produits de dégradation quantifiés	Oui	Non
- Produits de dégradation identifiés	Oui	Non
- Aucun commentaire sur les produits de dégradation	**Oui**	Non

Autres méthodes
- pH
- Osmolalité
- Activité biologique
-Perte d'eau par évaporation

Autres items

- Stabilité pour « Dose Banding »	Oui	Non

(concept = +/- 5% par rapport à la dose calculée selon la SC)

PROPOSITION DE COTATION

- A□ , A+□, B☐, **B+□,** C□, C+□, D□, E□, Joker □

Commentaires standardisés (justification ou précision quant à la cotation)

- Pas de commentaire sur les produits de dégradation

Annexe 12 : Exemple d'une publication cotée en B

Molécule «classique» (article 2340) : Irinotecan

METHODE

Stabilité physique

- Contrôle visuel **Oui** Non
- Contrôle subvisuel
  - Turbidimétrie Oui Non
  - Microscopie Oui Non
  - Comptage particulaire Oui Non

Stabilité chimique

- Méthode : **HPLC**□ HPCE □ HPTLC □ CCM □
- Description de la méthode : **Oui** Non
- Détection : **UV** DAD Masse Fluorimétrie Electrochimie Autre :....
- Etalon interne Oui **Non**
- Validation de la méthode
  - Gamme d'étalonnage / coef. corrélation **Oui** Non
  - Within-day (= intra assay) reproducibility (< 2%) **Oui** Non
  - Between-day (= inter assay) reproducibility (< 4%) **Oui** Non
  - Capacité indicatrice de stabilité **Oui** Non
    - Dégradation forcée (description) **Oui** Non
    - Détection des produits de dégradation **Oui** Non
    - Diminution des concentrations de la molécule étudiée **Oui** Non

Autres méthodes

- pH **Oui** Non
- Osmolalité Oui Non
- Activité biologique Oui Non
- Perte d'eau par évaporation Oui Non
- Recherche de contaminants (DEHP…) Oui Non

RESULTATS

Stabilité physique

- Contrôle visuel : changement de couleur, d'aspect, précipité… **Oui** Non
- Contrôle subvisuel

Stabilité chimique

- Stabilité établie avec x% de la concentration initiale **90%** 95%
- Expression « chiffrée » des résultats **Oui** Non
- CV < 5% **Oui** Non
- Si chute de concentration :
  explication, PD... Oui Non **NA**
- Si augmentation de concentration :
  explication, PD, évaporation... Oui Non **NA**
- Cohérence globale **Oui** Non

- Produits de dégradation commentés	**Oui**	Non
- Produits de dégradation quantifiés	Oui	**Non**
- Produits de dégradation identifiés	**Oui**	Non
- Aucun commentaire sur les produits de dégradation	Oui	**Non**

Autres méthodes

- pH

- Osmolalité
- Activité biologique

-Perte d'eau par évaporation

Autres items

- Stabilité pour « Dose Banding »	Oui	Non
(concept = +/- 5% par rapport à la dose calculée selon la SC)		

PROPOSITION DE COTATION

- A□ , A+□, **B□,** B+☐, C□, C+□, D□, E□, Joker □

Commentaires standardisés (justification ou précision quant à la cotation)

- Produits de dégradation identifiés

Annexe 13 : Exemple d'une publication cotée en C+

Molécule «classique» (article 411) : 5-fluorouracile

METHODE

Stabilité physique

- Contrôle visuel **Oui** Non
- Contrôle subvisuel
  - Turbidimétrie Oui Non
  - Microscopie **Oui** Non
  - Comptage particulaire Oui Non

Stabilité chimique

- Méthode : **HPLC**□ HPCE □ HPTLC □ CCM □
- Description de la méthode : **Oui** Non
- Détection **: UV** DAD Masse Fluorimétrie Electrochimie Autre :....
- Etalon interne **Oui** Non
- Validation de la méthode
  - Gamme d'étalonnage / coef. corrélation Oui **Non = 1 critère**
  - Within-day (= intra assay) reproducibility (< 2%) Oui **Non**
  - Between-day (= inter assay) reproducibility (< 4%) Oui **Non**
  - Capacité indicatrice de stabilité **Oui** Non
    - Dégradation forcée (description) Oui N**on**
    - Détection des produits de dégradation **Oui** Non
    - Diminution des concentrations de la molécule étudiée Oui **Non**

Autres méthodes

- pH Oui **Non**
- Osmolalité Oui Non
- Activité biologique Oui Non
- Perte d'eau par évaporation Oui Non
- Recherche de contaminants (DEHP…) Oui Non

RESULTATS

Stabilité physique

- Contrôle visuel : changement de couleur, d'aspect, précipité… **Oui** Non
- Contrôle subvisuel

Stabilité chimique

- Stabilité établie avec x% de la concentration initiale 90% **95%**
- Expression « chiffrée » des résultats **Oui** Non
- CV < 5% **Oui** Non
- Si chute de concentration :
  - explication, PD... Oui Non **NA**
- Si augmentation de concentration :
  - explication, PD, évaporation... Oui Non **NA**
- Cohérence globale **Oui** Non

- Produits de dégradation commentés **Oui : non observés** Non
- Produits de dégradation quantifiés Oui Non
- Produits de dégradation identifiés Oui Non
- Aucun commentaire sur les produits de dégradation Oui Non

Autres méthodes
- pH
- Osmolalité
- Activité biologique
-Perte d'eau par évaporation

Autres items
- Stabilité pour « Dose Banding » Oui Non
(concept = +/- 5% par rapport à la dose calculée selon la SC)

PROPOSITION DE COTATION

- A□ , A+□, B☐, B+☐, C□, **C+□,** D□, E□, Joker □

Commentaires standardisés (justification ou précision quant à la cotation)

- Répétabilité / reproductibilité / gamme étalon : résultats non fournis ou en dehors des bornes fixées
- Produits de dégradation non observés en conditions réelles

Annexe 14 : Exemple d'une publication cotée en C

Molécule «classique» (article 1617) Irinotecan

METHODE

Stabilité physique

- Contrôle visuel Oui **Non**
- Contrôle subvisuel
  - Turbidimétrie Oui Non
  - Microscopie Oui Non
  - Comptage particulaire Oui Non

Stabilité chimique

- Méthode : **HPLC**□ HPCE □ HPTLC □ CCM □
- Description de la méthode : **Oui** Non
- Détection : UV DAD Masse **Fluorimétrie** Electrochimie Autre :....
- Etalon interne Oui **Non**
- Validation de la méthode
  - Gamme d'étalonnage / coef. corrélation Oui **Non = 1 critère**
  - Within-day (= intra assay) reproducibility (< 2%) Oui **Non**
  - Between-day (= inter assay) reproducibility (< 4%) Oui **Non**
  - Capacité indicatrice de stabilité **Oui** Non
    - ▪ Dégradation forcée (description) **Oui** **Non**
    - ▪ Détection des produits de dégradation **Oui** Non
    - ▪ Diminution des concentrations de la molécule étudiée **Oui** **Non**

Autres méthodes

- pH **Oui** Non
- Osmolalité Oui Non
- Activité biologique Oui Non
- Perte d'eau par évaporation Oui Non
- Recherche de contaminants (DEHP…) Oui Non

RESULTATS

Stabilité physique

- Contrôle visuel : changement de couleur, d'aspect, précipité… Oui **Non**
- Contrôle subvisuel

Stabilité chimique

- Stabilité établie avec x% de la concentration initiale 90% **95%**
- Expression « chiffrée » des résultats **Oui** Non
- CV < 5% **Oui** Non
- Si chute de concentration :
  - explication, PD... Oui Non **NA**
- Si augmentation de concentration :
  - explication, PD, évaporation... Oui Non **NA**
- Cohérence globale **Oui** Non

- Produits de dégradation commentés	**Oui**	Non
- Produits de dégradation quantifiés	**Oui**	Non
- Produits de dégradation identifiés	**Oui**	Non
- Aucun commentaire sur les produits de dégradation	Oui	**Non**

Autres méthodes
- pH
- Osmolalité
- Activité biologique
-Perte d'eau par évaporation

Autres items

- Stabilité pour « Dose Banding » (concept = +/- 5% par rapport à la dose calculée selon la SC)	Oui	Non

PROPOSITION DE COTATION

- A□ , A+□, B☐, B+☐, **C□**, C+□, D□, E□, Joker □

Commentaires standardisés (justification ou précision quant à la cotation)

- Produits de dégradation quantifiés et identifiés
- Répétabilité / reproductibilité / gamme étalon : résultats non fournis ou en dehors des bornes fixées
- Pas de contrôle visuel

Annexe 15 : Exemple d'une publication cotée en D

Molécule «classique» (article 2104) : cyclophosphamide

METHODE

Stabilité physique

- Contrôle visuel **Oui** Non
- Contrôle subvisuel
  - Turbidimétrie Oui Non
  - Microscopie Oui Non
  - Comptage particulaire Oui Non

Stabilité chimique

- Méthode : **HPLC**□ HPCE □ HPTLC □ CCM □
- Description de la méthode : Oui **Non**
- Détection : UV **DAD** Masse Fluorimétrie Electrochimie Autre :....
- Etalon interne Oui Non
- Validation de la méthode
  - Gamme d'étalonnage / coef. corrélation Oui **Non**
  - Within-day (= intra assay) reproducibility (< 2%) Oui **Non**
  - Between-day (= inter assay) reproducibility (< 4%) Oui **Non**
  - Capacité indicatrice de stabilité Oui **Non**
    - Dégradation forcée (description) Oui **Non**
    - Détection des produits de dégradation Oui **Non**
    - Diminution des concentrations de la molécule étudiée Oui **Non**

Autres méthodes

- pH Oui Non
- Osmolalité Oui Non
- Activité biologique Oui Non
- Perte d'eau par évaporation Oui Non
- Recherche de contaminants (DEHP…) Oui Non

RESULTATS

Stabilité physique

- Contrôle visuel : changement de couleur, d'aspect, précipité… Oui Non
- Contrôle subvisuel

Stabilité chimique

- Stabilité établie avec x% de la concentration initiale **??? non fournis**
- Expression « chiffrée » des résultats Oui **Non**
- CV < 5% Oui **Non**
- Si chute de concentration :
  explication, PD... Oui **Non** NA
- Si augmentation de concentration :
  explication, PD, évaporation... Oui **Non** NA
- Cohérence globale Oui **Non**

- Produits de dégradation commentés	Oui	Non
- Produits de dégradation quantifiés	Oui	Non
- Produits de dégradation identifiés	Oui	Non
- Aucun commentaire sur les produits de dégradation	Oui	**Non**

Autres méthodes
- pH
- Osmolalité
- Activité biologique
-Perte d'eau par évaporation

Autres items

- Stabilité pour « Dose Banding »	Oui	Non
(concept = +/- 5% par rapport à la dose calculée selon la SC)		

PROPOSITION DE COTATION

- A□ , A+□, B☐, B+☐, C□, C+□, **D□,** E□, Joker □

Commentaires standardisés (justification ou précision quant à la cotation)
- Capacité indicatrice de stabilité insuffisamment évaluée
- Répétabilité / reproductibilité / gamme étalon : résultats non fournis ou en dehors des bornes fixées
- Expression non chiffrée des résultats
- Pas de commentaire sur les produits de dégradation

Annexe 16 : Exemple d'une publication cotée en E

Molécule «classique» (article 3135) : panitumumab et cetuximab

Activité biologique	**Oui : méthode ELISA**	
Aspect physique :		
- Turbidimétrie	Oui	**Non**
- Chromatographie d'exclusion de gel (size exclusion chromatography)	Oui	**Non**
- Diffusion dynamique de la lumière (dynamic light scattering)	Oui	**Non**
- Courbe d'agrégation en fonction de la température	Oui	**Non**
Aspect chimique		
- Cartographie peptidique (Peptide mapping)	Oui	**Non**
- Chromatographie ionique (Ionic Chromatography)	Oui	**Non**
- Spectroscopie UV et dérivée seconde (structure tertiaire)	Oui	**Non**
- Spectroscopie IR et dérivée seconde (structure secondaire)	Oui	**Non**
- Electrophorèse capillaire	Oui	**Non**

Commentaire : Méthode biologique uniquement

Annexe 17 : Exemple d'une publication cotée en « joker »

Molécule «classique» (article 1286) Paclitaxel et Doxorubicine JOKER (A+ et B+)

METHODE

Stabilité physique

- Contrôle visuel **Oui** Non
- Contrôle subvisuel
  - Turbidimétrie **Oui** Non
  - Microscopie Oui Non
  - Comptage particulaire Oui Non

Stabilité chimique

- Méthode : **HPLC**□ HPCE □ HPTLC □ CCM □
- Description de la méthode : **Oui** Non
- Détection : **UV** DAD Masse Fluorimétrie Electrochimie Autre :....
- Etalon interne Oui **Non**
- Validation de la méthode
  - Gamme d'étalonnage / coef. corrélation **Oui** Non
  - Within-day (= intra assay) reproducibility (< 2%) **Oui** Non
  - Between-day (= inter assay) reproducibility (< 4%) **Oui** Non
  - Capacité indicatrice de stabilité **Oui** Non
    - Dégradation forcée (description) **Oui** Non
    - Détection des produits de dégradation **Oui** Non
    - Diminution des concentrations de la molécule étudiée **Oui** Non

Autres méthodes

- pH Oui Non
- Osmolalité Oui Non
- Activité biologique Oui Non
- Perte d'eau par évaporation Oui Non
- Recherche de contaminants (DEHP…) Oui Non

RESULTATS

Stabilité physique

- Contrôle visuel : changement de couleur, d'aspect, précipité… **Oui** Non
- Contrôle subvisuel

Stabilité chimique

- Stabilité établie avec x% de la concentration initiale **90% (doxo)** **95% (paclitaxel)**
- Expression « chiffrée » des résultats **Oui** Non
- CV < 5% **Oui** Non
- Si chute de concentration :
  explication, PD... Oui Non **NA**
- Si augmentation de concentration :
  explication, PD, évaporation... Oui Non **NA**
- Cohérence globale **Oui** Non

- Produits de dégradation commentés	Oui	Non
- Produits de dégradation quantifiés	Oui	Non
- Produits de dégradation identifiés	Oui	Non
- Aucun commentaire sur les produits de dégradation	**Oui**	Non

Autres méthodes
- pH
- Osmolalité
- Activité biologique
-Perte d'eau par évaporation

Autres items

- Stabilité pour « Dose Banding »	Oui	Non
(concept = +/- 5% par rapport à la dose calculée selon la SC)		

PROPOSITION DE COTATION

- A□ , A+□, B☐, B+☐, C□, C+□, D□, E□, **JOKER car - A+ (paclitaxel)□ , B+ (doxorubicine)**

Commentaires standardisés (justification ou précision quant à la cotation)

- Pas de commentaire sur les produits de dégradation

Annexe 18 : Base de données des équipes impliquées dans les études de stabilité en Europe

Pays	Ville	Equipes	Molécules étudiées	Appareillage disponible / méthodes employées
France	Paris (Henri Mondor)	Astier, Paul, Vieillard	Protéines +++ : rituximab, cetuximab, trastuzumab, bevacizumab, L-	cartographie peptidique, CEX, SEC, DLS, UV, IR
			Molécules classiques : azacitidine	CLHP-UV, CLHP-DAD
	Paris (Robert Debré	Jacolot, Arnaud, Lecompte, Caroff, Naveau, Guillot, Bousselet, Brion	Methotrexate, Carboplatine, Mitoxantrone	CLHP-UV
	Paris (St Germain)	Crauste-Manciet, Brossard, Richard	5-Fluorouracile, Carboplatine, Oxaliplatine	CLHP-UV
	Paris (Jean Verdier)	Menard, Bourguignon, Schlatter, Vermerie, Chiadmi, Toledano, André,	Cyclophosphamide, Doxorubicine, Bortezomib, Oxaliplatine	CLHP-UV, CLHP-DAD
	Montpellier	Pinguet, Poujol, Bressole, Solassol	Melphalan, 5-Fluorouracile, Dacarbazine, Oxaliplatine, Docetaxel, Eribuline, Carmustine,	CLHP-UV, CLHP-DAD, CLHP-SM
	Nancy	Vigneron, Demoré	Melphalan, Bortezomib, Bendamustine, Azacitidine, Cladribine, Pemetrexed	CLHP-DAD, CLHP-DEDL
	Clermont-Ferrand	Chopineau, Sautou-Miranda	Etoposide, Cytarabine, Daunorubucine, Doxorubicine, Epirubicine, Paclitaxel, Docetaxel,	CLHP-DAD, CLHP-UV
	Lille	Cazin, Cazin,Dine, Luyckx, Goudaliez, Mallevais	5-Fluorouracile, Dacarbazine, Cyclophosphamide, Ifosfamide, Vincristine, Vinorelbine, Vindésine, Vinblastine, Methotrexate, Fotemustine, Cisplatine, Carboplatine,	CLHP-DAD, CLHP-détection électrochimie, CLHP-UV
	Poitiers	Rochard, Barthes, Courtois	Cisplatine, Carboplatine, Etoposide, 5-Fluorouracile, Cytarabine,	CLHP-DAD
	Tours	Tournamille, Viaud-Massuard, Respaud	Daunorubicine, Pemetrexed	CLHP-DEDL, CLHP-UV,
	Marseille	Aujoulat, Coze, Braguer, Raybaud, Pourroy, Solas, Lacarelle,	Methotrexate, Doxorubicine, Ifosfamide, Paclitaxel,	CLHP-DAD
Allemagne	Mainz	Kaiser, Krämer, Thiesen	Trastuzumab	SEC, Electrophorèse, UV,
			Topotecan, Irinotecan, Irinotecan-loaded (DC Beads®), Clofarabine, Nelarabine, Docetaxel, Busulfan, Bendamustine, Amsacrine,	CLHP-DAD, CLHP-UV,
	Freiburg	Trittler	Vincristine, Fludarabine, Doxorubicine, Carboplatine,	CLHP-SM, CLHP-DAD, CLHP-UV
	Jena	Kupfer, Scriba, Hartmann	Alemtuzumab	SEC
Royaume-Uni	Exeter	Sewell	Cisplatine, Docetaxel, Vincristine, Doxorubicine, Ifosfamide, Epirubicine, Paclitaxel, Carboplatine, 5-Fluorouracile, Mitozantrone,	CLHP-DAD, CLHP-UV
	Nottingham	Kirk	Mustine, Cyclophosphamide,	CLHP-détection électrochimie,
	Manchester	Hadfield, McGown, Dawson, Thatcher, Fox, Hrubisko	Carboplatine, Cisplatine, Ifosfamide,	CLHP-SM, CLHP-UV
	Londres	Wright, Newton	Methotrexate,	CLHP-UV
Pays-Bas	Amsterdam	Beijnen	cyclophosphamide, doxorubicine, daunorubicine, idarubicine, vincristine, vindesine, vincristine, vinblastine, etoposide, teniposide, mitomycine C,	CLHP-UV
	Utrecht	Keusters,Stolk, Van Asten, Umans	Doxorubicine, Epirubicine, Mitomycine C,	CLHP-UV
	Leiden	Den Hartigh, Brandenburg, Vermeij	Azacitidine,	CLHP-UV

Pays	Ville	Equipes	Molécules étudiées	Appareillage disponible / méthodes employées
Irlande	Belfast	Cartwright, McElnay, D'Arcy	Amsacrine, Methotrexate	CLHP-UV
Grèce	Athènes	Stewart, Warren, King, Venkateshwaren, Fox	Doxorubicine, Dacarbazine, Vincristine, Cisplatine, Etoposide	CLHP-DAD, CLHP-UV
Italie	Naples	Bolognese, Esposito, Rotoli	Bortezomib,	CLHP-UV,
Espagne	Barcelona	Pujol, Munoz, Prat, Girona, De Bolos, Ponton,	Ifosfamide, Carboplatine, Cisplatine, Epirubicne, Gemcitabine,	CLHP-DAD, CLHP-UV
	Malaga	Bosch-Ojeda, Sanchez-Rojas, Espinosa-Bosch	Bortezomib,	CLHP-UV,
Hongrie	Budapest	Mittner, Vincze, Jemnitz	Vinblastine, Cyclophospamide, Cisplatine,	CLHP-SM, CLHP-UV
Suède	Lund	Seiving, Johansonn, Nyhammar	Doxorubicine, Vincristine	CLHP-UV
Norvège	Oslo	Karlsen, Hjort, Thonnesen, Olsen, Solline, Skobba	Doxorubicine, Methotrexate	CLHP-UV

Annexe 19 : Grade des recommandations fondé sur le niveau de preuve scientifique de la littérature selon la HAS

Grade des recommandations	Niveau de preuve scientifique fourni par la littérature
A Preuve scientifique établie	Niveau 1 - essais comparatifs randomisés de forte puissance ; - méta-analyse d'essais comparatifs randomisés ; - analyse de décision fondée sur des études bien menées.
B Présomption scientifique	Niveau 2 - essais comparatifs randomisés de faible puissance ; - études comparatives non randomisées bien menées ; - études de cohortes.
C Faible niveau de preuve scientifique	Niveau 3 - études cas-témoins.
	Niveau 4 - études comparatives comportant des biais importants ; - études rétrospectives ; - séries de cas ; - études épidémiologiques descriptives (transversale, longitudinale).

Annexe 20 : Nouveau formulaire d'analyse et de cotation (médicaments injectables)

Analyse des études de stabilité de médicaments injectables INFOSTAB

Proposition :

Accepté / En attente / Refusé raison (si en attente ou refusé) : ……………………………………………………………………

Lecteur : ……………………Référence : …………………………………………………………………………………N° : ……………

MOLECULE(S) ETUDIEE (S)

DCI : ……………………………………………………………………………Nom commercial : ……………………………

Composition excipient : ………………………………………………………Fournisseur : ………………………………

STABILITE PHYSIQUE :

EXAMEN VISUEL				EXAMEN SUBVISUEL			
METHODE			**RESULTATS**	**METHODE**			**RESULTATS :**
- Précipité	oui □	non □		- Turbidimétrie :	oui □	non □	
- Changement couleur	oui □	non □		- Comptage particulaire :	oui □	non □	
- Dégagement gazeux	oui □	non □		- Analyse microscopique :	oui □	non □	

STABILITE CHIMIQUE :

METHODE				RESULTATS		
• **Méthode séparative**	oui □	non □		• **Molécule(s) à l'étude(s)**		
• **Si méthode HPLC**				Résultats avec x% de la [ ] initiale	90% □	95% □
Description conditions	oui □	non □		Expression chiffrée des résultats	oui □	non □
Stability-indicating	oui □	non □		Résultats avec CV < 5%	oui □	non □
Gamme étalon :	oui □	non □	nombre de point : ………	Cohérence globale	oui □	non □
Répétabilité **CV < 2%**	oui □	non □				
Reproduction inter-série **CV<4%**	oui □	non □		• **Produits de dégradation**		
Etalon interne : tps rétention ≠ PD	oui □	non □		PD commentés	oui □	non □
Détecteur : UV □ DAD □ MS □ DEDL □ Autre: ………………………				PD non observés en conditions réelles	oui □	non □
• **Autres méthodes** CCM □ Spectro-UV □ enzymatique □ Autre: ………..				PD quantifiés	oui □	non □
• **Autres investigations**				PD identifiés	oui □	non □
pH	oui □	non □				
Osmolalité	oui □	non □		• **Résultats des autres méthodes**		
Perte d'eau par évaporation	oui □	non □		………………………………………………		
Recherche de contaminant (DEHP)	oui □	non □		………………………………………………		

PROPOSITION DE COTATION **A□, A+□, B□, B+□, C□, C+□, D□, E□, Joker □**

COMMENTAIRES STANDARDISES

• **Validation de méthode**	• **Commentaires sur les résultats**
– Capacité indicatrice de stabilité insuffisamment étudiée – Méthode non présentée (lettre à l'éditeur, poster…) – Méthode non présentée ayant servi au dépôt d'AMM – Méthode non présentée mais référence à une méthode validée – Répétabilité / reproductibilité / gamme étalon : résultats non fournis ou en dehors des bornes fixées – Séparation de l'étalon interne par rapport au produit à l'étude ou ses produits de dégradation imparfaite, ou insuffisamment étudiée	– Expression non chiffrée des résultats (graphique par exemple) – Résultats avec coefficient de variation élevé ou non fourni, ou absence d'analyse en double de chaque point • **Critère d'exclusion** – Non coté : étude de compatibilité seule – Non coté : facteur influençant la stabilité
• **"Autres" commentaires** – Augmentation de concentration non expliquée – Pas de contrôle visuel – Produit naturellement très instable, répétabilité difficile à réaliser – Variation de pH non commentée ou difficilement interprétable – Méthode biologique uniquement	• **Produits de dégradation** – Pas de commentaires sur les PD – PD non observés en conditions réelles – PD détectés mais non quantifiés – PD quantifiés non identifiés – PD identifiés non quantifiés – PD quantifiés et identifiés

AUTRES COMMENTAIRES DU LECTEUR

STABILITE DE LA MOLECULE EN SOLUTION				
Contenant	Solvant	[ ]	Conditions de conservation	Durée de stabilité

STABILITE DE LA MOLECULE EN MELANGE INJECTABLE					
Contenant	Solvant	Molécule(s) utilisée(s) en mélange		Conditions de conservation	Durée de stabilité
		DCI	[ ]		

INCOMPATIBILITES

INFLUENCE DE	
Solvant	Température
Contenant	Lumière
Excipient	Filtration
Autres	

CAS DES PROTEINES

• **Activité biologique**	Oui ☐	Non ☐
• **Aspect physique**		
Turbidimétrie	Oui ☐	Non ☐
Chromatographie d'exclusion de gel (size exclusion chromatography)	Oui ☐	Non ☐
Diffusion dynamique de la lumière (dynamic light scattering)	Oui ☐	Non ☐
• **Aspect chimique**		
Cartographie peptidique (Peptide mapping)	Oui ☐	Non ☐
Chromatographie ionique (Ionic Chromatography) (souvent CEX)	Oui ☐	Non ☐
Dérivée seconde UV (structure tertiaire)	Oui ☐	Non ☐
Dérivée seconde IR (structure secondaire)	Oui ☐	Non ☐
Electrophorèse capillaire	Oui ☐	Non ☐

PROPOSITION DE COTATION **A□, A+□, B□, B+□, C□, C+□, D□, E□, Joker □**

COMMENTAIRES STANDARDISES RELATIFS AUX PROTEINES

- Protéines : activité biologique par culture cellulaire
- Protéines : activité biologique par technique enzymatique
- Protéines : pas de méthode biologique
- Protéines : nombre insuffisant de méthodes analytiques

Annexe 21 : Grille actuelle d'analyse d'articles - médicamens injectables

INFOSTAB

ANALYSE D'ARTICLES INJECTABLES

Proposition :
Accepté
En attente : raison :
Refusé : raison :

Lecteur ……………. **Réf.** …………………………………………………………… **N°** ………

DCI : ………………………………………………………………………………………………

Nom commercial : ………………………………… **Fournisseur :** …………………………………

Composition excipient : …………………………………………………………………………

METHODE

- **Stabilité physique** :
  - *Aspect visuel :*

Méthode utilisée :	**Si OUI → Résultats :**
- **Précipité :** oui ☐ non ☐ - **Changement de couleur :** oui ☐ non ☐ - **Dégagement gazeux :** oui ☐ non ☐	

  - *Aspect subvisuel :*

Recherche de :	**Si OUI → Résultats :**
- **Turbidimétrie :** oui ☐ non ☐ - **Comptage particulaire :** oui ☐ non ☐ - **Analyse microscopique :** oui ☐ non ☐	

Stabilité chimique :
- ***Méthode séparative :*** **oui ☐ non ☐** ***Méthode :***
- ***Si méthode séparative HPLC :***
  - ✓ **Description des conditions analytiques : oui ☐ non ☐**
  - ✓ **Stability-indicating compatibility : oui ☐ non ☐**
  - ✓ **Gamme étalon : - oui ☐ non ☐**
    - nombre de point :
  - ✓ **Répétabilité CV :**
  - ✓ **Reproduction inter série CV :**
  - ✓ **Si étalon interne, temps de rétention différent des produits de dégradation : oui ☐ non ☐**
  - ✓ **Détecteur : ☐ UV ☐ DAD ☐ Autre**
- ***Autres méthodes :*** **☐ spectro UV**
  ☐ chromatographie couche mince
  ☐ « enzymatique »
  ☐ autre

Autres investigations :
- **pH : oui ☐ non ☐**
- **Osmolalité : oui ☐ non ☐**
- **Autres :**

STABILITE DE LA MOLECULE EN SOLUTION				
Contenant	**Solvant**	**Concentration**	**Conditions de conservation**	**Durée de stabilité**

STABILITE DE LA MOLECULE EN MELANGE INJECTABLE						
Contenant	**Solvant**	**DCI et concentration de la molécule1**	**Molécule(s) utilisée(s) en mélange**		**Conditions de conservation**	**Durée de stabilité**
			DCI	**Concentration**		

INCOMPATIBILITES

INFLUENCE DE	
Solvant	**Température**
Contenant	**Lumière**
Excipient	**Filtration**
Autres	

COMMENTAIRES

FACULTE DE PHARMACIE **UNIVERSITE DE LORRAINE**

DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : 24 octobre 2013

<table>
<tr>
<td>
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR
EN PHARMACIE

présenté par : Pauline LIDER née BARBIER

Sujet : Evolution de la base de données Stabilis® : Création d'un système de cotation des publications relatives aux études de stabilité de médicaments anticancéreux

Jury :

Président : Pr. Jean-Louis MERLIN, PU-PH
Directeurs : Dr. Jean VIGNERON, Pharmacien PH
Dr. Béatrice DEMORE, MCU-PH

Juges : Dr. Isabelle GINDRE, Pharmacien PH
Pr. Geneviève UBEAUD-SEQUIER, PU-PH
</td>
<td>
Vu,

Nancy, 19/09/2013 — Nancy, 17/09/2013

Le Président du Jury — Les Directeurs de Thèse

Pr Jean-Louis MERLIN — Dr Jean VIGNERON

Dr Béatrice DEMORE
</td>
</tr>
<tr>
<td>
Vu et approuvé,

Nancy, le 16.09.13

Doyen de la Faculté de Pharmacie
de l'Université de Lorraine,

UNIVERSITE DE LORRAINE — FACULTE DE PHARMACIE
Francine PAULUS
</td>
<td>
Vu,

Nancy, le 4.10.2013.

Le Président de l'Université de Lorraine,

Université de Lorraine — Le Président
Pierre MUTZENHARDT

N° d'enregistrement : 6637
</td>
</tr>
</table>

N° d'identification :

TITRE

Evolution de la base de données Stabilis® : création d'un système de cotation des publications relatives aux études de stabilité de médicaments anticancéreux

Thèse soutenue le 24 octobre 2013
Par Pauline LIDER née BARBIER

RESUME

Actuellement, les données de stabilité disponibles sur la base de données Stabilis® ne sont pas accompagnées d'information relative à la qualité des articles dont elles proviennent. L'objectif de ce travail est de créer un système de cotation et d'informations des publications relatives à la stabilité des médicaments anticancéreux injectables alimentant Stabilis®.
Après avoir construit un formulaire d'évaluation fondé sur les recommandations des ICH, de l'ESOP et de la SFPO, nous avons analysé toutes les études de stabilité de médicaments anticancéreux injectables présentes dans la base. Le système de cotation compte 5 niveaux de preuve de A à E où A représente le niveau le plus élevé et E les études uniquement basées sur une méthode biologique. Les écrans de saisie et de visualisation ont ensuite été créés.
Un total de 196 articles étaient éligibles dont 61% ont obtenu un bon niveau de preuve au moins égal à B. La stabilité chimique était établie avec 95% de la concentration initiale pour 71% des articles. L'absence des résultats de linéarité ou de précision représente le critère le plus fréquemment défaillant : dans 47% des niveaux C et 75% des niveaux D.
Le niveau de preuve reflète la qualité des articles dont sont issues les données de stabilité. Au premier trimestre 2014, il sera disponible sur le site de la base de données et constituera donc une aide pour les utilisateurs. Pour rester fidèle à l'esprit de Stabilis®, les informations sont apportées sous forme de pictogrammes créés spécialement pour ce travail. De plus, l'ajout de commentaires standardisés traduits dans les 26 langues de la base permet d'apporter des informations complémentaires comme l'étude ou non des produits de dégradation. Les articles avec un bon niveau de preuve représentent une majorité, mais malgré l'existence de recommandations adaptées, notre travail permet de montrer qu'un trop grand nombre de publications présentent une méthode incomplètement validée, en particulier en ce qui concerne la capacité indicatrice de stabilité, ou une étude insuffisante des produits de dégradation. En plus de l'évolution apportée à la base de données Stabilis®, ce travail peut inciter à réaliser des études plus complètes. La prochaine évolution concernera la cotation des publications relatives à la stabilité des antibiotiques par voie injectable, deuxième classe pharmacologique en nombre d'articles dans Stabilis®.

MOTS CLES :
Méthode de cotation, Niveau de preuve, Etude de stabilité, Stabilis®, Anticancéreux

Co-Directeurs de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
Dr. Jean VIGNERON	Pharmacie Brabois Adultes CHU Nancy	**Travail expérimental** **Thème Médicaments**
Dr Béatrice DEMORE	Laboratoire de Pharmacie Clinique, Faculté de Pharmacie de Nancy	